



**Jörg Oliver Willig**

**Auswirkungen von  
Prostaglandin F<sub>2α</sub>  
auf die Motilität  
boviner Spermien**

**INAUGURAL-DISSERTATION**

zur Erlangung des Grades eines

**Dr. med. vet.**

beim Fachbereich Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen



*édition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

**Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.**

**Die rechtliche Verantwortung für den gesamten Inhalt dieses Buches liegt ausschließlich bei den Autoren dieses Werkes.**

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung der Autoren oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2015

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Authors or the Publisher.

1<sup>st</sup> Edition 2015

© 2015 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen  
Printed in Germany



*édition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN  
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890  
email: [redaktion@doktorverlag.de](mailto:redaktion@doktorverlag.de)

[www.doktorverlag.de](http://www.doktorverlag.de)

Aus dem Klinikum Veterinärmedizin, Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und  
Andrologie der Groß- und Kleintiere mit Tierärztlicher Ambulanz der  
Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuer: Prof. Dr. A. Wehrend

# **Auswirkungen von Prostaglandin $F_{2\alpha}$ auf die Motilität boviner Spermien**

**INAUGURAL-DISSERTATION**

zur Erlangung des Grades eines

Dr. med. vet.

beim Fachbereich Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

eingereicht von

**Jörg Oliver Willig**

Tierarzt aus Öhringen (Baden-Württemberg)

Gießen 2015

Mit Genehmigung des Fachbereiches Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan: Prof. Dr. Dr. h.c. M. Kramer

Gutachter: Prof. Dr. Axel Wehrend

Prof. Dr. Martin Bergmann

Tag der Disputation: 05. Oktober 2015

# Inhaltsverzeichnis

|           |   |           |
|-----------|---|-----------|
| <b>1</b>  | <b>Einleitung und Fragestellung</b>   | <b>1</b>  |
| <b>2</b>  | <b>Literaturübersicht</b>   | <b>2</b>  |
| 2.1       | Prostaglandine  | 2         |
| 2.1.1     | Chemische Struktur  | 3         |
| 2.1.2     | Wirkungsweise der Prostaglandine  | 4         |
| 2.2       | Prostaglandine im Ejakulat  | 6         |
| 2.2.1     | Endogener Prostaglandingehalt   | 6         |
| 2.2.2     | Funktion und Bedeutung der Prostaglandine im Ejakulat                                   | 10        |
| 2.2.2.1   | Auswirkungen auf den männlichen Geschlechtstrakt  | 11        |
| 2.2.2.2   | Auswirkungen auf die weiblichen Reproduktionsorgane                                     | 12        |
| 2.2.2.3   | Wirkungen auf die Spermien  | 14        |
| 2.3       | Zusatz von Prostaglandinen zur Besamungsportion bzw. Applikation zum Besamungszeitpunkt | 16        |
| 2.3.1     | Auswirkungen auf das Konzeptionsergebnis  | 16        |
| 2.3.1.1   | Systemische Applikation   | 16        |
| 2.3.1.2   | Lokale Applikation  | 22        |
| 2.3.2     | Auswirkungen in vitro   | 26        |
| 2.3.2.1   | Endogene Prostaglandine   | 26        |
| 2.3.2.2   | Exogene Prostaglandine  | 26        |
| 2.3.2.2.1 | Rind  | 26        |
| 2.3.2.2.2 | Schwein   | 31        |
| <b>3</b>  | <b>Material und Methoden</b>  | <b>36</b> |
| 3.1       | Ejakulate   | 36        |
| 3.2       | Prostaglandinpräparate  | 37        |
| 3.3       | Computergestützte Spermienanalyse   | 39        |
| 3.4       | Verwendete Geräte   | 46        |
| 3.5       | Versuchsdesign  | 47        |
| 3.5.1     | Vorversuch  | 47        |
| 3.5.2     | Versuch 1   | 48        |
| 3.5.3     | Versuch 2   | 52        |
| 3.6       | Auswertung  | 54        |

|          |   |           |
|----------|---|-----------|
| 3.7      | Statistische Verfahren .....  | 54        |
| <b>4</b> | <b>Ergebnisse .....</b>   | <b>56</b> |
| 4.1      | Vorversuch .....  | 56        |
| 4.1.1    | Lagerung im Wasserbad bei 35 °C .....   | 56        |
| 4.1.2    | Lagerung im Kühlschrank bei 4 °C .....  | 58        |
| 4.1.3    | Lagerung bei Raumtemperatur (24 °C).....  | 60        |
| 4.1.4    | Festlegung der Lagertemperatur für den Hauptversuch .....                             | 62        |
| 4.2      | Versuch 1 .....   | 65        |
| 4.2.1    | Anteil beweglicher Spermien .....   | 65        |
| 4.2.2    | Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien.....  | 69        |
| 4.2.3    | Länge des tatsächlich zurückgelegten Weges (DCL).....                                 | 73        |
| 4.2.4    | Länge einer geglätteten Linie (DAP).....  | 77        |
| 4.2.5    | Strecke zwischen Start- und Endpunkt (DSL).....                                       | 81        |
| 4.2.6    | Kurvilineare Geschwindigkeit (VCL) .....  | 85        |
| 4.2.7    | Mittlere Geschwindigkeit (VAP) .....  | 89        |
| 4.2.8    | Lineare Geschwindigkeit (VSL).....  | 93        |
| 4.2.9    | Linearität der Spermienbewegung (LIN).....  | 97        |
| 4.2.10   | Geradlinigkeit des durchschnittlichen Bewegungsablaufes (STR) .....                   | 101       |
| 4.2.11   | Auslenkung der Spermienbewegung (WOB).....  | 105       |
| 4.2.12   | Frequenz der lateralen Kopfbewegungen (BCF) .....                                     | 109       |
| 4.2.13   | Amplitude der lateralen Kopfbewegungen (ALH).....                                     | 113       |
| 4.3      | Versuch 2 .....   | 117       |
| 4.3.1    | Anteil beweglicher Spermien .....   | 117       |
| 4.3.1.1  | Anteil beweglicher Spermien nach Zugabe von Dinoprost.....                            | 117       |
| 4.3.1.2  | Anteil beweglicher Spermien nach Zugabe von Cloprostenol - Racemat<br>.....           | 118       |
| 4.3.1.3  | Anteil beweglicher Spermien nach Zugabe von Cloprostenol -<br>Enantiomer.....         | 120       |
| 4.3.2    | Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien.....  | 122       |
| 4.3.2.1  | Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien nach Zugabe von Dinoprost ...                     | 122       |
| 4.3.2.2  | Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien nach Zugabe von Cloprostenol -<br>Racemat.....    | 123       |
| 4.3.2.3  | Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien nach Zugabe von Cloprostenol -<br>Enantiomer..... | 125       |

|          |   |     |
|----------|---|-----|
| 4.3.3    | Tatsächlich zurückgelegter Weg (DCL) .....                          | 127 |
| 4.3.3.1  | DCL nach Zugabe von Dinoprost .....                                 | 127 |
| 4.3.3.2  | DCL nach Zugabe von Cloprostenol-Racemat .....                      | 128 |
| 4.3.3.3  | DCL nach Zugabe von Cloprostenol-Enantiomer .....                   | 129 |
| 4.3.4    | Länge einer geglätteten Linie (DAP).....                            | 131 |
| 4.3.4.1  | DAP nach Zugabe von Dinoprost .....                                 | 131 |
| 4.3.4.2  | DAP nach Zugabe von Cloprostenol-Racemat.....                       | 132 |
| 4.3.4.3  | DAP nach Zugabe von Cloprostenol-Enantiomer.....                    | 134 |
| 4.3.5    | Strecke zwischen Start- und Endpunkt (DSL).....                     | 136 |
| 4.3.5.1  | DSL nach Zugabe von Dinoprost.....                                  | 136 |
| 4.3.5.2  | DSL nach Zugabe von Cloprostenol-Racemat .....                      | 137 |
| 4.3.5.3  | DSL nach Zugabe von Cloprostenol-Enantiomer .....                   | 139 |
| 4.3.6    | Kurvilineare Geschwindigkeit (VCL) .....                            | 141 |
| 4.3.6.1  | VCL nach Zugabe von Dinoprost.....                                  | 141 |
| 4.3.6.2  | VCL nach Zugabe von Cloprostenol-Racemat .....                      | 142 |
| 4.3.6.3  | VCL nach Zugabe von Cloprostenol-Enantiomer .....                   | 144 |
| 4.3.7    | Mittlere Geschwindigkeit (VAP) .....                                | 146 |
| 4.3.7.1  | VAP nach Zugabe von Dinoprost .....                                 | 146 |
| 4.3.7.2  | VAP nach Zugabe von Cloprostenol-Racemat.....                       | 147 |
| 4.3.7.3  | VAP nach Zugabe von Cloprostenol-Enantiomer .....                   | 148 |
| 4.3.8    | Lineare Geschwindigkeit (VSL).....                                  | 150 |
| 4.3.8.1  | VSL nach Zugabe von Dinoprost.....                                  | 150 |
| 4.3.8.2  | VSL nach Zugabe von Cloprostenol-Racemat .....                      | 151 |
| 4.3.8.3  | VSL nach Zugabe von Cloprostenol-Enantiomer .....                   | 153 |
| 4.3.9    | Linearität der Spermienbewegung (LIN).....                          | 155 |
| 4.3.9.1  | Linearität nach Zugabe von Dinoprost.....                           | 155 |
| 4.3.9.2  | Linearität nach Zugabe von Cloprostenol-Racemat .....               | 156 |
| 4.3.9.3  | Linearität nach Zugabe von Cloprostenol-Enantiomer .....            | 158 |
| 4.3.10   | Geradlinigkeit des durchschnittlichen Bewegungsablaufes (STR) ..... | 160 |
| 4.3.10.1 | STR nach Zugabe von Dinoprost .....                                 | 160 |
| 4.3.10.2 | STR nach Zugabe von Cloprostenol-Racemat .....                      | 161 |
| 4.3.10.3 | STR nach Zugabe von Cloprostenol-Enantiomer .....                   | 163 |
| 4.3.11   | Auslenkung der Spermienbewegung (WOB).....                          | 165 |
| 4.3.11.1 | WOB nach Zugabe von Dinoprost .....                                 | 165 |

|          |  |            |
|----------|--|------------|
| 4.3.11.2 | WOB nach Zugabe von Cloprostenol-Racemat.....                      | 166        |
| 4.3.11.3 | WOB nach Zugabe von Cloprostenol-Enantiomer.....                   | 167        |
| 4.3.12   | Frequenz der lateralen Kopfbewegungen (BCF) .....                  | 169        |
| 4.3.12.1 | BCF nach Zugabe von Dinoprost .....                                | 169        |
| 4.3.12.2 | BCF nach Zugabe von Cloprostenol-Racemat .....                     | 170        |
| 4.3.12.3 | BCF nach Zugabe von Cloprostenol-Enantiomer .....                  | 172        |
| 4.3.13   | Amplitude der lateralen Kopfbewegungen (ALH).....                  | 174        |
| 4.3.13.1 | ALH nach Zugabe von Dinoprost.....                                 | 174        |
| 4.3.13.2 | ALH nach Zugabe von Cloprostenol-Racemat .....                     | 175        |
| 4.3.13.3 | ALH nach Zugabe von Cloprostenol-Enantiomer .....                  | 177        |
| <b>5</b> | <b>Diskussion .....</b>  | <b>179</b> |
| 5.1      | Diskussion der Fragestellung.....                                  | 179        |
| 5.2      | Diskussion der Methode.....  | 181        |
| 5.2.1    | Auswahl des Probenmaterials .....                                  | 181        |
| 5.2.2    | Auswahl der PGF <sub>2α</sub> -Präparate und -Konzentrationen..... | 182        |
| 5.2.3    | Analysezeitpunkte.....   | 183        |
| 5.2.4    | Lagertemperatur .....  | 184        |
| 5.2.5    | Computergestützte Spermienanalyse.....                             | 185        |
| 5.2.6    | Versuchsaufbau .....   | 188        |
| 5.3      | Diskussion der Ergebnisse.....                                     | 189        |
| 5.3.1    | Vorversuch.....  | 189        |
| 5.3.2    | Versuch 1 .....  | 190        |
| 5.3.3    | Versuch 2.....   | 191        |
| <b>6</b> | <b>Zusammenfassung.....</b>  | <b>197</b> |
| <b>7</b> | <b>Summary .....</b>   | <b>200</b> |
| <b>8</b> | <b>Literaturverzeichnis .....</b>                                  | <b>202</b> |
| <b>9</b> | <b>Anhang .....</b>  | <b>229</b> |
| 9.1      | Anhang 1: Ergebnisse Versuch 1 (Tabellen 17 bis 29).....           | 229        |
| 9.2      | Anhang 2: Ergebnisse Versuch 2 (Tabellen 30 bis 42).....           | 243        |
|          | <b>Tabellenverzeichnis .....</b>                                   | <b>257</b> |
|          | <b>Abbildungsverzeichnis.....</b>                                  | <b>260</b> |



## Abkürzungsverzeichnis

|                |  |
|----------------|--|
| AG             | Aktiengesellschaft   |
| ALH            | amplitude of lateral head displacement, Amplitude der lateralen Kopfbewegung ( $\mu\text{m}$ ) |
| ALT            | Alanin-Aminotransferase  |
| AOC            | average orientation change, Orientierungsänderung des Spermienkopfes (Grad)                    |
| Aqua bidest.   | Aqua bidestillata  |
| AST            | Aspartat-Aminotransferase  |
| BCF            | beat cross frequency, Frequenz der lateralen Kopfbewegung (Hz)                                 |
| bzw.           | beziehungsweise  |
| ca.            | circa  |
| cAMP           | cyclisches Adenosinmonophosphat  |
| CASA           | computer assisted sperm analysis, Computer-Assistierte Sperma Analyse                          |
| CIDR           | Controlled Internal Drug Release   |
| Co. KG         | Compagnie Kommanditgesellschaft  |
| Co. Ltd.       | Compagnie Limited  |
| COX            | Cyclooxygenase   |
| C13            | Kohlenstoffatom ("C") Nummer 13  |
| DAP            | distance average path, Länge einer geglätteten Linie ( $\mu\text{m}$ )                         |
| DCL            | distance curved line, tatsächlich zurückgelegter Weg ( $\mu\text{m}$ )                         |
| DSL            | distance straight line, Strecke zwischen Start- und Endpunkt ( $\mu\text{m}$ )                 |
| durchschnittl. | durchschnittlich   |
| EDV            | Elektronische Datenverarbeitung  |
| eG             | eingetragene Gesellschaft  |
| et al.         | et alii, „und andere“, gemeint sind Autoren  |
| etc.           | et cetera  |
| EU             | Europäische Union  |
| Fa.            | Firma  |
| g              | Gramm  |
| GB             | Gigabyte   |
| ggf.           | gegebenenfalls   |
| GHz            | Gigahertz  |

---

|                   |   |
|-------------------|---|
| GmbH              | Gesellschaft mit beschränkter Haftung                               |
| GnRH              | Gonadotropin Releasing-Hormon                                       |
| °C                | Grad Celcius  |
| h                 | Stunde  |
| Hz                | Hertz   |
| i. m.             | intramuskulär   |
| i. v.             | intravenös  |
| k. A.             | keine Angabe  |
| Konz.             | Konzentration   |
| LH                | Luteinisierendes Hormon   |
| LIN               | linearity, Linearität   |
| Lsg.-mittel       | Lösungsmittel   |
| LTR               | Landesverband Thüringer Rinderzüchter                               |
| max.              | maximal   |
| µg                | Mikrogramm  |
| µl                | Mikroliter  |
| mg                | Milligramm  |
| MHD               | Mindesthaltbarkeitsdatum  |
| Mio.              | Millionen   |
| ml                | Milliliter  |
| Mrd.              | Milliarden  |
| ng                | Nanogramm   |
| o. g.             | oben genannt  |
| p                 | p-Wert  |
| PC                | Personal Computer   |
| pg                | Pikogramm   |
| PG                | Prostaglandin   |
| PGF <sub>2α</sub> | Prostaglandin mit der jeweiligen Bezeichnung, hier: F <sub>2α</sub> |
| P <sub>4</sub>    | Progesteron   |
| %                 | Prozent   |
| RAM               | Random-Access Memory  |
| Rbt.              | Rotbunt   |
| s                 | Sekunde   |
| S.                | Seite   |

|                |   |
|----------------|---|
| Sbt.           | Schwarzbunt   |
| SCA            | Sperm Class Analyser                                      |
| Sept.          | September   |
| SQA            | Sperm Quality Analyser                                    |
| Std.           | Stunde  |
| STR            | straightness, Geradlinigkeit                              |
| syn.           | Synonym   |
| T <sub>0</sub> | Wert zum Zeitpunkt 0                                      |
| Temp.          | Temperatur  |
| TG             | Tiefgefrierung  |
| THAM           | Trishydroxymethylaminomethan                              |
| u. a.          | unter anderem   |
| USA            | United States of America                                  |
| VAP            | average path velocity, Mittlere Geschwindigkeit (µm/s)    |
| VCL            | curvilinear velocity, Kurvilineare Geschwindigkeit (µm/s) |
| Vol.           | Volumen   |
| VSL            | straight line velocity, Lineare Geschwindigkeit (µm/s)    |
| WOB            | wobble, Auslenkung  |
| z. B.          | zum Beispiel  |
| ZBH            | Zucht- und Besamungsunion Hessen eG                       |



# 1 Einleitung und Fragestellung

Die Besamung entwickelte sich seit dem Zweiten Weltkrieg zum wichtigsten Instrument der assistierten Reproduktion beim Rind. Vom Erfolg der Besamung hängt bis heute die Wirtschaftlichkeit jeder Milchkuh und somit eines modernen Milchviehbetriebes ab. Aus diesem Grund wurde immer wieder versucht, die Erfolgsraten mit diversen Methoden zu steigern, wenngleich eine 100%ige Erfolgsrate nicht erreichbar ist.

Ein Faktor, der den Besamungserfolg beeinflusst, bilden die im Seminalplasma enthaltenen Prostaglandine der F-Serie ( $\text{PGF}_{2\alpha}$ ). Diese werden bei der heute üblichen Verdünnung, bei der bis zu 500 Besamungsportionen aus einem Ejakulat hergestellt werden, ebenfalls verdünnt. Diverse Studien haben bereits versucht, durch Substitution von Prostaglandinen zeitnah zur Besamung die Trächtigkeitsraten zu steigern, teilweise mit Erfolg. Die Applikation erfolgte dabei sowohl systemisch als auch lokal in den Uterus. Nur bei der lokalen Anwendung können die Prostaglandine neben ihrer Wirkung auf das Myometrium zusätzlich auf die Spermien wirken und neben dem passiven auch den aktiven Transport steigern.

Neben diesen Feldstudien wurde *in vitro* untersucht, welche Auswirkungen  $\text{PGF}_{2\alpha}$  auf die Kontraktilität des Myometriums hat. Desweiteren beschäftigten sich verschiedene Autoren mit dem Einfluss von Prostaglandinen auf die Motilität von Bullenspermien *in vitro*. Jedoch wurden beim Rind bisher nur Studien mit Hilfe der konventionellen Spermauntersuchung unter dem Lichtmikroskop durchgeführt. Eine wesentlich objektivere Methode, die Motilität von Spermien zu beurteilen, stellen computer-assisted sperm analyser (CASA) dar.

Ziel der vorliegenden Arbeit war, mit Hilfe des CASA-Systems SpermVision® den Einfluss eines Zusatzes von  $\text{PGF}_{2\alpha}$  *in vitro* auf die Motilitätsparameter boviner Spermien zu untersuchen.

## 2 Literaturübersicht

### 2.1 Prostaglandine

Prostaglandine sind ungesättigte Fettsäurederivate und kommen in fast allen Geweben des Organismus vor (SCHRÖR und HOHLFELD 2005). Als hochwirksame Gewebshormone sind sie an physiologischen und an pathophysiologischen Prozessen beteiligt (LÖSCHER 2010). Sie beeinflussen die physiologische Aktivität der glatten Muskulatur. Je nach Prostaglandinmolekül kommt es in Blutgefäßen, Bronchien, Uterus und Darmwand zur Muskelkontraktion oder –relaxation (LÖSCHER 2010).

Pathophysiologisch spielen Prostaglandine eine wichtige Rolle als Entzündungsmediatoren (EBERT et al. 2009). Sie vermitteln im Rahmen der Entzündung indirekte Schmerzen und besitzen eine zentrale pyrogene Wirkung (LÖSCHER 2010). Deshalb sind die Enzyme ihrer Synthese zu einer wichtigen Zielgröße der antiphlogistischen Therapie geworden (SCHOLZ 2003).

PGF<sub>2α</sub> kommt in der Veterinärmedizin aufgrund seiner luteolytischen Eigenschaften eine große Bedeutung zu (KROKER 2010). Es wird in der Buiatrik sehr häufig zur Regulation der Fortpflanzung eingesetzt. Dabei wirkt es sowohl auf die Eierstöcke, die Plazenta und den Uterus, als auch auf die Hypophyse (WEEMS et al. 2006). Physiologisch wird PGF<sub>2α</sub> ab dem 16./17. Tag nach der Ovulation vom Endometrium gebildet (GINTHER 1967). In der Refraktärphase ist die Regression des Corpus luteum jedoch nicht auslösbar. So kann die Luteolyse zur Brunstinduktion und Brunstsynchronisation nicht vor Tag 5 nach der Ovulation induziert werden (BRAUN et al. 1988; ROWSON et al. 1972). Weitere Indikationen sind die Abortinduktion bzw. die Geburtseinleitung.

Im männlichen Geschlechtstrakt spielen Prostaglandine ebenfalls eine wichtige Rolle. Sie werden vorwiegend von der Glandula vesicularis gebildet (ELIASSON 1959). Hohe Konzentrationen finden sich aber nur im Seminalplasma von Primaten und Schafen (KELLY et al. 1976; BYDGEMAN u. HOLMBERG 1966). Ihre genaue Funktion an dieser Stelle ist bis heute noch nicht abschließend geklärt (SCHRÖR und HOHLFELD 2005).

### 2.1.1 Chemische Struktur

Die chemische Struktur der Prostaglandine wurde erstmalig von BERGSTRÖM et al. (1962) beschrieben, nachdem VOGT (1957) bereits die wesentlichen chemischen Eigenschaften beschrieben hatte. Allen gemeinsam sind neben dem Grundgerüst aus 20 Kohlenstoffatomen die zwei Kohlenstoffseitenketten und ihr Cyclopentanring (BERGSTRÖM et al. 1962). Die natürlichen Prostaglandine besitzen außerdem eine Hydroxylgruppe an C15 und eine trans-Doppelbindung zwischen C13 und C14 (POYSER 1973). Zusammen mit den Thromboxanen und Leukotrienen gehören sie der Gruppe der Eicosanoide an, da sie alle aus der Eikosatetraensäure (syn. Arachidonsäure) gebildet werden (KIETZMANN und BÄUMER 2009).

Die Einteilung der verschiedenen Prostaglandine folgt dem Lösungsverhalten und der chemischen Struktur in die sechs Gruppen A bis F. Hinzu kommt die Anzahl an Doppelbindungen an den Seitenketten, wonach ein-, zwei- und dreifach ungesättigte Prostaglandine unterschieden werden können (KINDAHL 1980; NARUMIYA et al. 1999). PGF<sub>2α</sub> hat demzufolge zwei Hydroxylgruppen an C9α und C11α und eine zweite Doppelbindung zwischen C5 und C6 in cis-Stellung (POYSER 1973).

Die Prostaglandinsynthese aus ungesättigten Fettsäuren findet in nahezu allen Körperzellen statt (LÖSCHER 2010), mit Ausnahme der Erythrozyten (KROKER 2010). Dabei ist die 20:4 ungesättigte Arachidonsäure das wichtigste Ausgangsmolekül. Sie ist wie die anderen Substrate in der Phospholipidschicht der Zellmembranen eingebaut und kommt zusätzlich in komplexen Lipiden vor.

Die Biosynthese wurde von BERGSTRÖM et al. (1964) und VAN DORP et al. (1964) anhand von homogenisierten Samenblasendrüsen des Schafbockes untersucht. Sie zeigten, dass Arachidonsäure durch das Homogenat in das Prostaglandin E<sub>2</sub> umgewandelt wird.

Prostaglandine werden nicht gespeichert, sondern nach bestimmten Stimuli neu gebildet und sofort freigesetzt (SCHRÖR und HOHLFELD 2005). Dabei katalysiert die Prostaglandinsynthetase, als ein System verschiedener Enzyme, die Bildung der Prostaglandine. Als erster Schritt wird durch die cytosolische Phospholipase A<sub>2</sub> die Arachidonsäure freigesetzt (CLARK et al. 1995), die als Ester der Membranphospholipide vorliegt (GOFF 2004). Anschließend werden durch die Cyclooxygenase und die Peroxidase in zwei Schritten die instabilen Prostaglandine H<sub>2</sub> und G<sub>2</sub> gebildet (KNISS 1999; GOFF 2004). Diese stellen Zwischenprodukte dar und werden durch zellspezifische Synthasen und Ketoreduktasen in die Prostaglandine

$E_2$  und  $F_2$  (URADE et al. 1995; WATANABE 2002), in Prostacycline und in Thromboxane umgebaut (SCHOLZ 2003).

### 2.1.2 Wirkungsweise der Prostaglandine

Prostaglandine vermitteln ihre Wirkung über membranständige Rezeptoren (ROBERTSON 1986), da sie trotz ihrer hydrophoben Eigenschaften die Plasmamembran nicht selbst permeieren können (NARUMIYA und FITZGERALD 2001). Transportproteine sind für die Freisetzung der Fettsäurederivate zuständig (KANAI et al. 1995), damit sie auto- und parakrin ihre Wirkung entfalten können (COLEMAN et al. 1994).

Bei den Oberflächenrezeptoren handelt es sich um G-Protein-gekoppelte Rezeptoren (NARUMIYA und FITZGERALD 2001), die je nach Affinität in fünf Haupttypen eingeteilt werden und sieben Untereinheiten besitzen (NARUMIYA et al. 1999). Sie unterscheiden sich im Weg der intrazellulären Signaltransduktion. Je nach Rezeptorsubtyp werden Secondmessengersysteme aktiviert oder inaktiviert. Die Adenylatcyclase und die Phospholipase C sorgen für die unterschiedlichen Effektormechanismen in den verschiedenen Geweben (NARUMIYA et al. 1999).

$PGF_{2\alpha}$  bindet an den FP-Rezeptor. Über eine aktivierte Untereinheit des G-Proteins kommt es zur Aktivierung der membranständigen Phospholipase C. Diese wiederum katalysiert die Hydrolyse von Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat in Diacylglycerol und Inositol-1,4,5-trisphosphat (NARUMIYA et al. 1999). Anschließend folgt eine intrazelluläre Calciumerhöhung, welche bei entsprechendem Anstieg zum programmierten Zelltod führen kann (KERR et al. 1972). Dieser Prozess ist an der Luteolyse beteiligt.

Die Freisetzung von Calciumionen kann die Kontraktion einer glatten Muskelzelle zur Folge haben. Diese Signalkaskade entspricht der ersten Kategorie an Prostaglandinrezeptoren, die kontraktile Rezeptoren. Des Weiteren gibt es relaxierende und inhibitorische Prostaglandinrezeptoren. Hier kommt es durch den intrazellulären Anstieg an cAMP zur Relaxation bzw. zur Inhibition einer Relaxation durch Absenken des cAMP-Gehaltes (NARUMIYA et al. 1999; NARUMIYA und FITZGERALD 2001).

Ein weiterer Weg, die Wirkung der Prostaglandine zu regulieren, ist deren Elimination aus dem Organismus. Der Metabolismus erfolgt sehr schnell in Lunge, Leber und Niere. Die Metaboliten, darunter vorwiegend 15-Keto-13,14-dihydro- $PGF_{2\alpha}$ , werden



mit dem Urin ausgeschieden. Die Halbwertszeit von  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ist mit maximal einer Minute sehr kurz (GRANSTRÖM und KINDAHL 1982; GOFF et al. 1984; LEWIS 2003), weil natürliche Prostaglandine bereits bei der ersten Passage der Lunge bzw. Leber zu 90 % durch Enzyme abgebaut werden.

Wie schnell die unterschiedlichen Prostaglandine eliminiert werden, hängt davon ab, wie gut sie durch die Plasmamembran der Lungenzellen transportiert werden (KANAI et al. 1995). Dies verleitet zu der Annahme, dass Prostaglandine vorwiegend am Ort ihrer Entstehung ihre Wirkung entfalten (NARUMIYA et al. 1999). So bewirkt das endometriale  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , welches beim Rind direkt über die Vena uterina vom Endometrium zum Zielort transportiert wird, die Luteolyse, ohne dass bereits ein großer Anteil bei der Lungenpassage eliminiert wird. Bei der Stute wird das systemisch sezernierte  $\text{PGF}_{2\alpha}$  langsamer verstoffwechselt und kann so eine systemische Wirkung entfalten (HANDLER und AURICH 2009).

Die ab den 1970er Jahren entwickelten synthetischen Analoga Cloprostenol, Tiaprost, Fenprostalen, Luprostiol, Fluprostenol und Etiproston haben eine höhere Spezifität und eine wesentlich längere Halbwertszeit (GRUNERT und ZERBE 1999). Diese beträgt nach KROKER (2010) zwischen 1 und 34 Stunden und bewirkt, dass die synthetischen Präparate wesentlich länger therapeutisch wirksam sind. Außerdem haben sie den Vorteil, dass weniger unerwünschte Nebenwirkungen auftreten. Natürliches Dinoprost belastet den Kreislauf in Form von Puls- und Atemfrequenzerhöhung und kann bei Überdosierung zu Atemnot, Vomitus, Salivation und Ataxie des Tieres führen. Die synthetischen Agonisten fördern dagegen weniger die Kontraktion der glatten Muskulatur und führen deshalb erst bei vielfacher Überdosierung zu unerwünschten Nebenwirkungen (KROKER 2010).

## 2.2 Prostaglandine im Ejakulat

Die amerikanischen Gynäkologen KURZROK und LIEB (1930) beschrieben die Wirkung von menschlicher Samenflüssigkeit auf den Uterus. Derselbe Uterus reagierte nach Kontakt mit verschiedenen Ejakulaten unterschiedlich: bei einem mit Kontraktionen, bei einem anderen relaxierte er sich. GOLDBLATT (1933) und VON EULER (1934) beschrieben ebenfalls die veränderte Aktivität von glatter Muskulatur nach einer Behandlung mit Seminalplasma.

Den Begriff „Prostaglandine“ führte VON EULER (1936) ein. Er isolierte die ungesättigten Fettsäuren aus dem Ejakulat und aus Extrakten der Prostata des Menschen und später auch einiger Tierarten. Er hielt diese Fettsäuren für Bestandteile des Prostatasekretes und gab ihnen deshalb ihren Namen.

BERGSTRÖM et al. (1962) und NUGTEREN et al. (1966) klärten die molekulare Struktur auf. Man wies außerdem Prostaglandine in anderen Geweben nach. BERGSTRÖM et al. (1964) und VAN DORP et al. (1964) beschrieben zeitgleich die Biosynthese aus essentiellen Fettsäuren.

Als primären Syntheseort identifizierte ELIASSON (1959) die Glandula vesicularis, indem er die verschiedenen Fraktionen des Ejakulates vom Schafbock einzeln untersuchte. Dieses Ergebnis konnten GEROZISSIS et al. (1982) bei vasktomierten Männern bestätigen. Die Biosynthese der von STURDE (1971) so bezeichneten „Spermastroglandine“ wird durch Androgene gesteuert.

Letztendlich besitzen Prostaglandine viele unterschiedliche Wirkungen, die eine physiologische Bedeutung im Rahmen der Reproduktion haben. Im Seminalplasma und im gesamten männlichen und weiblichen Geschlechtstrakt wurden fast alle Prostaglandine nachgewiesen. Es handelt sich jedoch oft um Zwischenstufen, die ohne Enzymaktivität weiter umgebaut werden, weil sie sehr instabil sind (URADE et al. 1995). So sind wahrscheinlich alle nachgewiesenen Prostaglandine A und B nur Artefakte und haben keine physiologische Funktion (JONSSON et al. 1975). Aber auch die Funktion der E- und F-Prostaglandine im Ejakulat ist nicht abschließend geklärt.

### 2.2.1 Endogener Prostaglandingehalt

Im menschlichen Seminalplasma gibt es mindestens 17 verschiedene Prostaglandine (MANN und LUTWAK-MANN 1981). Ihre Konzentration beträgt hier bis zu 300 µg/ml. In vielen anderen Geweben ist sie mit ca. 1 µg/g fast vernachlässigbar (STURDE und

GLOWANIA 1974). Im Seminalplasma stellen PGE<sub>1</sub> und PGE<sub>2</sub> den quantitativ größten Anteil der Prostaglandine (BYDGEMAN und SAMUELSSON 1964). Dies zeigt die Zusammenstellung von MANN und LUTWAK-MANN (1981) in Tabelle 1. Aktuelle Arbeiten beziehen sich heute noch auf die über 30 Jahre alten Untersuchungen und Werte (JOSEPH et al. 2013).

Tabelle 1: Prostaglandingehalte im Ejakulat des Mannes in µg/ml

| <b>Prostaglandine</b>   | <b>Mittelwerte</b> | <b>Quelle</b>                |
|---|--------------------|------------------------------|
| PGE <sub>1</sub> und PGE <sub>2</sub>                                     | 63,2               | BRUMMER und GILLESPIE 1972   |
| PGE <sub>1</sub>  | 25                 | BYGDEMAN und SAMUELSSON 1966 |
| PGE <sub>2</sub>  | 23                 | BYGDEMAN und SAMUELSSON 1966 |
| PGE <sub>1</sub> und PGE <sub>2</sub>                                     | 73,2               | TEMPLETON et al. 1978        |
| PGE <sub>3</sub>  | 5,5                | BYGDEMAN und SAMUELSSON 1966 |
| PGE <sub>1</sub> , PGE <sub>2</sub> und PGE <sub>3</sub>                  | 52,6               | BYGDEMAN und ELIASSON 1969   |
| 19-OH PGE <sub>1</sub> und<br>19-OH PGE <sub>2</sub>                      | 267,0              | TEMPLETON et al. 1978        |
| PGF <sub>1α</sub>   | 3,6                | BYGDEMAN und SAMUELSSON 1966 |
| PGF <sub>2α</sub>   | 4,4                | BYGDEMAN und SAMUELSSON 1966 |
| PGF   | 2,1                | TEMPLETON et al. 1978        |
| 19-OH PGF   | 18,3               | TEMPLETON et al. 1978        |
| PGAs (A <sub>1</sub> , A <sub>2</sub> , B <sub>2</sub> , B <sub>2</sub> ) | 10,5               | BYGDEMAN und ELIASSON 1969   |
| 19-OH PGA und<br>19-OH PGB  | 29,9               | BYGDEMAN und ELIASSON 1969   |

Erste Versuche, Prostaglandine im Ejakulat von Bullen nachzuweisen, waren erfolglos (EULER 1934; ELIASSON 1959). Entsprechend konnte nach Kontakt mit Seminalplasma auch kein Effekt auf die glatte Muskulatur oder den Blutdruck nachgewiesen werden. Erst VLACHOS et al. (1973) bestimmten die Konzentrationen an PGF<sub>1</sub> und PGF<sub>1α</sub>. Gleichzeitig suchte VOGLMAYR (1973) nach Vorkommen von PGF<sub>2α</sub> (Tabelle 2).

Tabelle 2: Prostaglandingehalte im Ejakulat des Bullen in ng/ml

| Tierart                | Prostaglandine    | Messwerte     | Quelle                   |
|------------------------|-------------------|---------------|--------------------------|
| Bulle                  | PGF <sub>1</sub>  | 40            | VLACHOS et al. 1973      |
|                        | PGF <sub>1α</sub> | 250           |                          |
| Milchviehbulle         | PGF <sub>2α</sub> | 0,17 ± 0,02   | VOGLMAYR 1973            |
| Bulle                  | PGE <sub>1</sub>  | 395 ± 225     | MAI und KINSELLA<br>1980 |
|                        | PGE <sub>2</sub>  | 487 ± 407     |                          |
| Wasserbüffel           | PGF <sub>2α</sub> | 1,93          | REDDY et al. 1982        |
|                        | PGE <sub>2</sub>  | 2,40          |                          |
| Schwarzbunte<br>Bullen | PGF <sub>2α</sub> | 1,17          | LEDWOZYW et al. 1986     |
| Bulle                  | PGE               | 5 - 10        | SHORE et al. 2003        |
| Fleischrassebullen     | PGF <sub>2α</sub> | 0,273 ± 0,029 | JAEGER 2005              |
| Milchviehbullen        | PGF <sub>2α</sub> | 0,210 ± 0,018 |                          |

Es fällt auf, dass die Konzentrationen in bovinem Seminalplasma nur einen Bruchteil der beim Menschen gefundenen Konzentrationen ausmachen. Nur die Menschenaffen und der Schafbock haben eine ähnlich hohe Konzentration von Prostaglandinen wie der Mensch. In Tabelle 3 sind die Prostaglandingehalte im Ejakulat verschiedener Tierarten zusammengestellt.

Tabelle 3: Prostaglandingehalte im Ejakulat ausgewählter Tierarten

| Tierart    | Prostaglandine    | Messwerte            | Quelle                       |
|------------|-------------------|----------------------|------------------------------|
| Chimpanse  | PGE <sub>1</sub>  | 390 µg/ml            | KELLY et al. 1976            |
|            | PGE <sub>2</sub>  | 5 µg/ml              |                              |
| Rhesusaffe | PGE <sub>1</sub>  | 420 µg/ml            | KELLY et al. 1976            |
|            | PGE <sub>2</sub>  | 84 µg/ml             |                              |
| Schafbock  | PGE <sub>1</sub>  | 28 µg/ml             | BYDGEMAN u. HOLMBERG<br>1966 |
|            | PGE <sub>2α</sub> | 3,2 µg/ml            |                              |
|            | PGE <sub>3</sub>  | 2,0 µg/ml            |                              |
|            | PGF <sub>1α</sub> | 5,0 µg/ml            |                              |
|            | PGF <sub>2α</sub> | 2,3 µg/ml            |                              |
| Schafbock  | PGE               | 0,5 bis 20 µg/ml     | SHORE et al. 2003            |
| Eber       | PGF <sub>2α</sub> | 58,9 ± 4,4 pg/ml     | CHENG et al. 2003            |
| Eber       | PGE <sub>2</sub>  | <0,01 µg/ml          | POYSER 1974                  |
|            | PGF <sub>2α</sub> |                      |                              |
|            | PGA <sub>1</sub>  |                      |                              |
| Hengst     | PGF <sub>2α</sub> | 14,5 ± 18,8<br>ng/ml | CLAUS et al. 1992            |
| Hengst     | PGE<br>PGF        | 0,03 µg/ml           | POYSER 1974                  |
| Rammler    | PGE               | 0,08 µg/ml           | POYSER 1974                  |
|            | PGF <sub>2α</sub> | <0,03 µg/ml          |                              |
| Ratte      | PGE <sub>1</sub>  | 1 ng/ml              | VENTURA u. FREUND 1973       |
|            | PGF <sub>1</sub>  | 0,5 ng/ml            |                              |

Da Prostaglandine eine hohe biologische Aktivität besitzen, sind sie bereits in sehr geringen Konzentrationen wirksam (BERGSTRÖM et al. 1968). Deshalb dürfen sie im bovinen Seminalplasma nicht vernachlässigt werden. Außerdem machten POULOS et al. (1973) auf die Veränderungen in der Phospholipidmembran boviner Spermien aufmerksam, die während der Passage durch den Nebenhoden auftreten. Die Folge ist eine relativ hohe Konzentration an Arachidonsäure, die für die Synthese von Prostaglandinen genutzt werden kann. Beobachtungen von JAEGER (2005)

unterstreichen diese Annahme. Er bestimmte die Konzentration an  $\text{PGF}_{2\alpha}$  in verdünntem Sperma. Diese unterscheidet sich nur wenig von der in unverdünntem Sperma. Es muss deshalb zu einer Neusynthese während des Verdünnungsprozesses gekommen sein. Spermatozoen sind jedoch laut SCHLEGEL et al. (1981) nicht zur Neusynthese von Prostaglandinen fähig.

Bei der Identifizierung der Prostaglandine stellt sich die Frage, ob es sich um Metabolite handelt, die nach der Ejakulation durch Dehydratisierung oder Isomerisierung entstehen (URADE et al. 1995). Die ersten Messungen wurden nicht mit einer einheitlichen Methode durchgeführt. Zudem war man anfangs noch nicht in der Lage, unterschiedliche Klassen der Prostaglandine zu differenzieren. Aus diesen Gründen kann die Größenordnung der Werte zwar als aussagekräftig angesehen werden, die Ergebnisse verschiedener Autoren sind jedoch nicht direkt vergleichbar. Physiologische Schwankungen in der individuellen Zusammensetzung, die dadurch entstehen, dass die Sekretion des Ejakulates nicht geregelt, sondern ausgelöst wird (PETZOLDT 2001), und saisonale Unterschiede (GOTTREICH et al. 1996) sind nicht berücksichtigt.

### **2.2.2 Funktion und Bedeutung der Prostaglandine im Ejakulat**

Viele Untersuchungen beschäftigen sich mit dem endogenen Gehalt an Prostaglandinen im Sperma und dessen Einfluss auf den Befruchtungserfolg beim Menschen. Es ergeben sich signifikante Korrelationen zwischen einer sonst nicht erklärbaren Infertilität und niedrigen  $\text{PGE}_2$ -Konzentrationen (HAWKINS und LABRUM 1961; BYDGEMAN et al. 1970; COLLIER et al. 1975). STURDE (1968) zeigte zusätzlich, dass in sterilen Ehen ein niedriger Prostaglandingehalt eine proportional niedrige Spermiedichte nach sich zieht. Dies erlaubt den Schluss, dass der Prostaglandingehalt im Ejakulat einen direkten Einfluss auf die Fertilität hat. Die oben beschriebenen Korrelationen müssen jedoch wegen der Schwankungen der physiologischen Konzentration von  $\text{PGE}_2$  (TEMPLETON et al. 1978) hinterfragt werden. Die genauen Aufgaben der Spermastroglandine sind in vielerlei Hinsicht weiter unklar (SCHRÖR und HOHLFELD 2005), eine Differenzierung der Wirkung auf folgende Gebiete ist jedoch möglich (PETZOLDT 2001):

- auf den männlichen Geschlechtstrakt
- auf die weiblichen Reproduktionsorgane
- auf die Spermatozoen

### 2.2.2.1 Auswirkungen auf den männlichen Geschlechtstrakt

Es sei noch einmal angemerkt, dass der Großteil der im Seminalplasma enthaltenen Prostaglandine aus der Glandula vesicularis stammt (GEROZISSIS et al. 1982) und keinen Kontakt mit Hoden oder Nebenhoden hat. CENEDELLA (1975) beschreibt einen Einfluss entsprechender Prostaglandinkonzentrationen auf die Aktivität der glatten Muskulatur im Samenleiter. Konzentrationen von 0,2 bis 200 ng/ml verstärkten die Kontraktionen nach Zugabe von Norepinephrin in isolierten Samenleitern verschiedener Nagetiere (HEDQUIST und VON EULER 1972). Außerdem beeinflussen Prostaglandine, wie bereits VON EULER (1936) vermutete, laut CENEDELLA (1975) die Entleerung der akzessorischen Geschlechtsdrüsen.

Im Hoden konnten verschiedene Arbeiten eine Cyclooxygenase 2-Aktivität in Leydigzellen vom Goldhamster (FRUNGIERI et al. 2006) und bei ausgewachsenen Ratten nachweisen (WINNALL et al. 2007). Diese Prostaglandine können neben anderen Bestandteilen wie Steroidhormone, proteinische Hormone und Wachstumsfaktoren eine Wirkung auf den Hoden und Nebenhoden ausüben (PETZOLDT 2001). FRUNGIERI et al. (2006) fanden entsprechende Rezeptoren für  $\text{PGF}_{2\alpha}$ . Zu der Funktion der Prostaglandine im Hoden gibt es jedoch nur wenige Untersuchungen.

BARTKE et al. (1976) wiesen einen negativen Einfluss verschiedener Prostaglandine auf die Testosteronproduktion im Maushoden nach, ebenso SAKSENA et al. (1973). Letztere beschrieben einen verminderten Testosterongehalt im Plasma nach  $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Gaben. Neben der direkten Reduktion der Testosteronsynthese durch Prostaglandine, führt zusätzlich der verminderte Blutfluss zu einer Schädigung der Testosteron produzierenden Zellen und somit zu einem verminderten Blutplasmagehalt (EIK-NES 1964).

Systemisch verabreicht verursachen Prostaglandine einen starken Abfall der Spermatogenese bei Hund und Ratte (SINGH und DOMINIC 1986; MOSKOVITZ et al. 1987) und die Qualität der Spermatozoen leidet unter der Anwesenheit von Prostaglandinen im Hoden (BARKAY et al. 1984; KNUTH et al. 1989). Diese Effekte konnten allerdings beim Eber nicht gezeigt werden. 10 mg  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , kurz vor der Absamung intramuskulär verabreicht, hatte weder Auswirkungen auf die quantitativen Parameter des Spermas, noch auf die Libido. Die Untersuchungen erfolgten im Rahmen einer Langzeitbehandlung über 16 Wochen (ESTIENNE und HARPER 2004).

### 2.2.2.2 Auswirkungen auf die weiblichen Reproduktionsorgane

Zu einer erfolgreichen Befruchtung bedarf es vieler einzelner Schritte. Einige sind:

- die Samenübertragung
- der Transport der Gameten zum Ort der Befruchtung
- die Ovulation

Die Prostaglandine besitzen einen starken Einfluss auf die Kontraktionsbereitschaft des Uterus, wie bereits bei ihrer Entdeckung beschrieben wurde (KURZROK und LIEB 1930). Zu den gleichen Ergebnissen kamen COCKRILL et al. (1935). Die parakrine Wirkung von  $\text{PGF}_{2\alpha}$  im Ejakulat (LANGENDIJK et al. 2002a) wird zusätzlich autokrin verstärkt, indem Östrogene im Seminalplasma eine Freisetzung von  $\text{PGF}_{2\alpha}$  aus dem Uterusepithel induzieren (CHENG et al. 2003; CLAUS et al. 1987). Bei der natürlichen Bedeckung wird so die Kontraktion der glatten Muskulatur im Uterus induziert (PATIL et al. 1980, HIRSBRUNNER et al. 2003), um den passiven Transport der Spermien positiv zu beeinflussen (MÜNSTER et al. 2008).

Bei systemischer Gabe von  $\text{PGF}_{2\alpha}$  reagiert der Uterus des Rindes analog. Verschiedene Autoren konnten unabhängig vom Zyklusstand eine erhöhte Kontraktilität (RODRIGUEZ-MARTINEZ et al. 1987) und den damit verbundenen intrauterinen Druckanstieg nachweisen (HIRSBRUNNER et al. 2003).

Dieser Effekt lässt sich auch in vitro nachweisen. PATIL et al. (1980) untersuchten Proben von Rinderuteri und CHENG et al. (2001) Streifen von Schweineuteri. In beiden Arbeiten konnte mit verschiedenen Mengen an  $\text{PGF}_{2\alpha}$  die Aktivität des Myometriums gesteigert werden. EILER et al. (1989) kamen mit Fenprostalen zu dem gleichen Ergebnis, allerdings konnten sie in vivo beim Rind keinen Effekt nachweisen.

NAAKTGEBOREN et al. (1973) und HAWK (1975) fanden darüber hinaus, dass die Kontraktionen sich nur in einem kleinen Zeitraum um die Ovulation von der Zervix in Richtung der Eileiter fortsetzen. Während der übrigen Zeit im Zyklus verlaufen sie in entgegengesetzter Richtung. Insgesamt belegen mehrere Studien für verschiedene Tierarten die positiven Auswirkungen auf den passiven Spermientransport durch die gesteigerte Kontraktilität, beim Kaninchen SPILMAN und HARPER (1973) und HAWK et al. (1982), beim Schaf EDQUIST et al. (1975) und beim Schwein LANGENDIJK et al. (2002b) und WILLENBURG et al. (2003). Beim Menschen konnte ebenfalls durch die Gabe von  $\text{PGF}_{2\alpha}$  neben der Aktivität des Myometriums der passive Transport von Spermien gesteigert werden (BYGDEMAN et al. 1979).



Im Hinblick auf folgende Trächtigkeiten ist die postpartale Involution des Uterus sehr wichtig. Der physiologischen Prostaglandinsynthese kommt dabei eine große Bedeutung zu. Der Blutprostaglandinspiegel von Kühen ist am Tag der Geburt stark erhöht und erreicht mit einem ungestörten Puerperium ca. am Tag 15 post partum wieder Basalniveau (KÖNIGSSON et al. 2002). Bei Störungen der physiologischen Involution z.B. in Form einer Retentio secundinarum mit einhergehender puerperaler Metritis ist der Prostaglandinspiegel vor allem in den ersten 10 Tagen deutlich höher und bleibt bis zum Ende der Infektion über dem Basalniveau (KÖNIGSSON et al. 2002). Nach LINDELL und KINDAHL (1983) kann durch den Einsatz verschiedener  $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Präparate post partum die Aktivität des Myometriums positiv beeinflusst und so die postpartale Involution gefördert werden. YOUNG und ANDERSON (1986) konnten ebenfalls durch exogenes  $\text{PGF}_{2\alpha}$  puerperal verabreicht die Fruchtbarkeit steigern. Es gibt jedoch viele Arbeiten, die keine Wirkung nachweisen konnten (MORTON et al. 1992; TIAN und NOAKES 1991, ARMSTRONG et al. 1989). Insgesamt bleibt somit der Einsatz von  $\text{PGF}_{2\alpha}$  im Puerperium umstritten.

Jedoch spielen andere Wirkungen von  $\text{PGF}_{2\alpha}$  auf die weiblichen Reproduktionsorgane eine wichtige Rolle. ZOR et al. (1970) waren die ersten, die einen Einfluss von  $\text{PGF}_{2\alpha}$  bei der Ovulation erkannten. In diversen Arbeiten verhinderten die Autoren den Ovulationsprozess bei mehreren Tierarten durch Indomethacin, welches die Synthese von Prostaglandinen hemmt (SIROIS et al. 2004; GAYTÁN et al. 2002). Durch die Gabe von Prostaglandinen konnte anschließend die Ovulation wieder ausgelöst werden (GAYTÁN et al. 2002). Somit war nachgewiesen, dass Prostaglandine eine wichtige Rolle im physiologischen Ovulationsprozess spielen. Bereits ESPEY (1994) verglich die Ovulation mit einer Entzündungsreaktion, bei der die Cyclooxygenase-2 durch den Anstieg des Luteinisierenden Hormons (LH) induziert wird (SIROIS et al. 2004).

ARBEITER und ARBEITER (1985) berichteten ebenfalls von einer ovulationsauslösenden Wirkung von Prostaglandinen bei der Stute. Sie verwendeten für ihre Untersuchungen Alfaprostol. Die Auswirkungen können jedoch auch in einer erhöhten Ansprechbarkeit der Hypophyse auf das Gonadotropin Releasing-Hormon begründet sein, wie sie von RANDEL et al. (1996) beschrieben wurde. Es kommt dabei zu einer vermehrten Ausschüttung von LH und in der Folge zur Ovulation, jedoch nicht zu einer Verkürzung des Puerperiums (RANDEL et al. 1996). CRUZ et al. (1997) steigerten mit Alfaprostol die LH-Konzentration im Blut des Rindes und in

der Feldstudie von LOPEZ-GATIUS et al. (2004) konnte ebenfalls durch Cloprostenol die Ovulationsrate verbessert werden.

Das Seminalplasma ruft zusätzlich lokale Reaktionen hervor. In der Zervix und der Vaginalschleimhaut kommt es nach dem Coitus zu einer Entzündungsreaktion, welche u. a. gekennzeichnet ist durch die Einwanderung von Leukozyten und einer Induktion der Cyclooxygenase-2 (COX-2). Diese Reaktion findet bei jeder natürlichen Samenübertragung statt und ist untrennbar mit einer erfolgreichen Bedeckung verbunden. Das Prostaglandin E<sub>2</sub> wurde dabei als wichtigster Faktor identifiziert (JOSEPH et al. 2013), von welchem humanes Seminalplasma hohe Konzentrationen enthält (TEMPLETON et al. 1978). ESKIN et al. (1973) schreiben den Prostaglandinen bei der Überwindung des Zervikalschleims durch die Spermatozoen eine weitere lokale Wirkung zu. Es kann jedoch auch in diesem Zusammenhang nicht unterschieden werden, ob es sich um eine parakrine Wirkung der Prostaglandine im Ejakulat oder eine autokrine Wirkung der durch die COX-2 neu gebildeten Prostaglandine handelt, da die Untersuchungen in vitro durchgeführt wurden.

### **2.2.2.3 Wirkungen auf die Spermien**

Der direkte Einfluss der verschiedenen Komponenten des Seminalplasmas auf die Funktion der Spermien ist laut PETZOLDT (2001) gering, vor allem bei der natürlichen Verpaarung. Bei der Besamung dagegen kommt es durch die hochgradige Verdünnung des Ejakulates zu einer Änderung der Hormonkonzentration im Vergleich zum Natursprung, so dass die Wirkung der physiologisch vorkommenden Prostaglandine wegfallen kann, zumal diese nicht routinemäßig substituiert werden (WEITZE und PETRUNKINA 2007).

Jedoch zeigte JAEGER (2005) mit Hilfe von Verdünnungsreihen, dass die Konzentration trotz der Verdünnung ähnlich der des nativen Ejakulates erhalten bleibt. Es muss also eine Neusynthese von Prostaglandinen stattgefunden haben. JOHNSON und ELLIS (1977) fanden passend dazu eine geringe Prostaglandinsynthese-Aktivität im Spermischwanz bei der Ratte. Andere Autoren erzielten davon abweichende Ergebnisse. SCHLEGEL et al. (1981) konnten beim Menschen keine Neusynthese von Prostaglandinen in vitro durch Spermatozoen nachweisen.

Eine gewisse Menge an Prostaglandinen ist für eine ausreichend gute Motilität unbedingt notwendig (SCHLEGEL et al. 1981) und diese wiederum ist Voraussetzung für den aktiven Transport der Spermien durchs weibliche Genitale (MAES et al. 2003). Endogene Prostaglandinkonzentrationen gehen daher direkt mit der Befruchtungsfähigkeit einher. Allerdings besitzen stark erhöhte Konzentrationen, wie sie im Rahmen von Entzündungen auftreten, toxische Wirkungen auf die Spermienzellen (COHEN et al. 1977).

Wie Prostaglandine ihre Wirkung auf jede einzelne Spermienzelle entfalten, wurde von SHIMIZU et al. (1998) aufgedeckt. PGE<sub>1</sub> und PGE<sub>2</sub> bewirken einen Anstieg der Kalziumkonzentration im Zytoplasma von Spermien. Auf diese Weise wird vermutlich durch die Prostaglandine und das Progesteron in der Follikelflüssigkeit die Akrosomreaktion ausgelöst (SHIMIZU et al. 1998) und die Befruchtungsbereitschaft der Spermien gesteigert (AITKEN et al. 1986). EP3 ist der Rezeptor, der den Kalziuminflux vermittelt (NARUMIYA et al. 1999). Er wurde erstmalig von SCHAEFER et al. (1998) auf humanen Spermien nachgewiesen. Obwohl auch ein Rezeptor für PGF<sub>2α</sub> identifiziert wurde (SHIMIZU et al. 1998), bleibt dieser Effekt bei PGF<sub>2α</sub> aus (AITKEN et al. 1986). Vergleichbare Untersuchungen beim Bullen gibt es bisher nicht.

## **2.3 Zusatz von Prostaglandinen zur Besamungsportion bzw. Applikation zum Besamungszeitpunkt**

Es gibt viele Untersuchungen über die Auswirkungen von exogen eingesetzten Prostaglandinen zum Zeitpunkt der Besamung. Im Rahmen von klinischen Feldstudien wurden Prostaglandine den Tieren entweder systemisch appliziert oder lokal mit der Besamungsportion in den Uterus instilliert. Zur Verifizierung des Erfolges dieser Maßnahmen dienen Trächtigkeitsraten, Wurfgrößen und weitere klinische Parameter. Außerdem ist es mittels *in vitro*-Verfahren möglich, die Auswirkungen der zugesetzten Prostaglandine auf verschiedene Parameter der Spermienmotilität zu erfassen.

### **2.3.1 Auswirkungen auf das Konzeptionsergebnis**

Die oben beschriebenen Wirkungen von  $\text{PGF}_{2\alpha}$  auf die Kontraktilität des Uterus (LANGENDIJK et al. 2002b) und die Motilität der Spermien (SCHLEGEL et al. 1981) veranlassten verschiedene Autoren dazu, bei der Besamung mittels simultaner Gaben von  $\text{PGF}_{2\alpha}$  das Konzeptionsergebnis zu beeinflussen.

#### **2.3.1.1 Systemische Applikation**

Die Arbeit von GABRIEL et al. (2011) beschreibt die Auswirkungen auf die Trächtigkeitsrate sowohl nach intramuskulärer Injektion als auch nach intrauteriner Instillation von  $\text{PGF}_{2\alpha}$  unmittelbar nach der Besamung. Durch die systemische Applikation von 25 mg Dinoprost ließ sich weder bei Färsen noch bei pluriparen Kühen eine signifikante Steigerung der Konzeptionsrate im Vergleich zur Kontrollgruppe erzielen.

In der indischen Feldstudie von PATTANIK et al. (2010) wurde 80 Milchkühen und Färsen 0,25 mg Cloprostenol intramuskulär injiziert, die Tiere einer Kontrollgruppe erhielten keine Injektion. Die Besamung fand 15 Minuten später statt. Sie erreichten damit eine Verbesserung der Trächtigkeitsrate am 45. bis 60. Tag post inseminationem. Dieser Unterschied war allerdings im Vergleich zur Kontrollgruppe nicht signifikant.

KAUFFOLD et al. (2009) verwendeten 0,5 mg Cloprostenol und verabreichten es 115 Milchkühen und Färsen der Rasse Deutsche Holstein intramuskulär. Eine Kontrollgruppe von 105 Milchkühen erhielt ein Placebo. Mit dieser Dosis blieb ein

Effekt im Vergleich zur Kontrollgruppe ebenfalls aus. Außerdem ermittelten KAUFFOLD et al. (2009) die Ovulationsrate, indem sie 24 Stunden nach der Besamung alle Tiere transrektal sonografisch kontrollierten. Jedoch konnte kein Einfluss der Behandlung mit Cloprostenol auf den Ovulationszeitpunkt festgestellt werden.

Die Dissertation von JAEGER (2005) beschreibt Versuche zu beiden Applikationswegen. In einem Versuch zur intramuskulären Injektion verwendete er 25 mg Dinoprost-Tromethamine, das unmittelbar nach der Besamung gegeben wurde. Das Probandenkollektiv bestand aus zwei Gruppen, die unterschiedlich zur Applikation vorbereitet wurden. Zur ersten Gruppe gehörten Kreuzungsfärsen, die mittels Cosynch plus CIDR (LAMB et al. 2001) synchronisiert wurden. Die zweite Gruppe bestand aus zunächst nicht-synchronisierten Milchkühen der Rassen Deutsche Holstein und Jersey. Bei Tieren aus dieser Gruppe, die nicht in die Brunst kamen, wurde zusätzlich ein Ovsynch-Programm nach PURSLEY et al. (1995) durchgeführt. Zur Auswertung wurde am 35. Tag post inseminationem mittels transrektaler Sonografie oder am 45. Tag mittels transrektaler Palpation die Trächtigkeit festgestellt. So konnte JAEGER (2005) eine gesteigerte Trächtigkeitsrate sowohl bei den Kreuzungsfärsen, als auch bei den Milchkühen erzielen und einen positiven Einfluss der intramuskulären Applikation des natürlichen  $\text{PGF}_{2\alpha}$  nachweisen.

LÓPEZ-GATIUS et al. (2004) führten die im Folgenden beschriebenen drei Versuche mit intravenöser Gabe von 0,5 mg Cloprostenol nach Besamung durch. Sie hatten strenge Auswahlkriterien bezüglich des Gesundheitsstatus und der Körperkondition aller Versuchstiere. Alle Tiere mit einem gestörten Puerperium in Form einer puerperalen Metritis oder einer Retentio secundinarum wurden ebenso von der Studie ausgeschlossen wie die Tiere nach konservativer Geburtshilfe und nach einer Zwillingsgeburt. Stoffwechselprobleme, Mastitiden, Lahmheiten und sämtliche Abweichungen der Geschlechtsorgane von der physiologischen Norm bei der transrektalen Palpation, die während der Untersuchungen auftraten, waren weitere Ausschlusskriterien. Außerdem wurden nur Tiere mit einem Body Condition Score zwischen 2 und 3,5 für die Studie herangezogen. Ausgewertet haben sie neben den Trächtigkeitsraten nach Erst- und Zweitbesamung auch die Ovulationshäufigkeit und den Einfluss der Jahreszeit.

In Versuch 1 wurden 379 gesunde Holstein-Friesian Kühe, die mittels zweimaliger Cloprostenol-Gabe und anschließendem Ovsynch (PURSLEY et al. 1995) synchronisiert wurden, um den Tag 50 post partum besamt. Sie wurden in zwei Versuchsgruppen unterteilt: Gruppe 1 wurde in der kalten und Gruppe 2 in der warmen Jahreszeit vorgestellt.

Für Versuch 2 wurden 248 gesunde Kühe derselben Herde herangezogen, die zwischen Tag 90 und 120 post partum eine natürliche Brunst zeigten und sich in der ersten bis dritten Laktation befanden. Sie wurden nur in der kalten Jahreszeit von Oktober bis April in die Studie aufgenommen.

In Versuch 3 arbeiteten LÓPEZ-GATIUS et al. (2004) mit 183 Holstein-Friesian Kühen auf einem benachbarten Betrieb mit ähnlichem Management. Es wurden nur primipare Tiere verwendet, welche im Sommer von Mai bis September zur Besamung vorgestellt wurden und bereits zuvor schon mindestens zwei Mal erfolglos besamt worden waren.

LÓPEZ-GATIUS et al. (2004) kommen zu dem Ergebnis, dass 500 µg Cloprostenol direkt nach der Besamung systemisch verabreicht, die Ovulation bei Milchkühen fördert und die Doppelovulationsrate steigert. Die Cloprostenol-Gabe hatte bei durch Hitze gestressten Tieren einen 4,2-fachen Anstieg der Ovulationsrate zur Folge. Bei wiederholt brünstigen Milchkühen konnte die Trächtigkeitsrate gesteigert werden. Bei Kühen ohne Fertilitätsprobleme konnten sie keinen Effekt nachweisen.

Durch die Applikation von Cloprostenol konnten PRINZEN et al. (1991) eine verbesserte Trächtigkeitsrate erzielen. Sie hatten 15,2 Prozent mehr tragende Kühe in ihrem Feldversuch nach intravenöser Gabe von 0,05 mg Cloprostenol im Vergleich zur Gabe eines Placebos in ihrer Kontrollgruppe. 0,2 ml Esumate® wurden mit Aqua bidest auf insgesamt 2 ml verdünnt und direkt nach der Besamung injiziert. Die Tiere der Kontrollgruppe erhielten 2 ml Aqua bidest. als Placebo. Nur Kühe und Färsen, die zur Erstbesamung anstanden, nahmen an der Studie teil. Die Besamung wurde von einem Besamungstechniker durchgeführt. Tiere mit zu hohen Progesteronwerten wurden nicht in den Versuch einbezogen. So konnten sie eine Zwischenbrunst ausschließen. Allerdings gaben PRINZEN et al. (1991) keine Werte für den Progesterongehalt an und sprechen lediglich von einem „Normbereich für Brunst“. Zehn von insgesamt 400 Tieren lagen über diesem „Normbereich“ und schieden deshalb aus.

Ein Jahr später konnten ARCHBALD et al. (1992) mit Dinoprost bei intramuskulärer Applikation keinen Effekt feststellen. Sie trafen eine Auswahl an Milchkühen, indem sie zunächst transrektal nach einem Corpus luteum suchten und gleichzeitig den Progesteronwert im Blut bestimmten. Kühe mit Corpus luteum und einem  $P_4$ -Wert über 1 ng/ml wurden mit 25 mg  $PGF_{2\alpha}$  intramuskulär behandelt. Nur die Tiere, welche 72 bis 80 Stunden später in Brunst kamen, nahmen an dem Versuch teil. Das so definierte Probandenkollektiv wurde in Versuchs- und Kontrollgruppen aufgeteilt. Die Tiere einer Versuchsgruppe wurden besamt und erhielten eine Injektion von 25 mg Dinoprost intramuskulär.

Das gleiche Prostaglandin verwendeten zuvor MORRISON et al. (1988). Ihre Versuchstiere waren 68 Kreuzungsfärsen Angus x Hereford und 46 pluripare Chianinakühe. Diese wurden besamt und mit der gleichen Dosierung intramuskulär behandelt. Als Ergebnis konnte kein signifikanter Unterschied in der Trächtigkeitsrate festgestellt werden.

MORRISON et al. (1988) zählten zusätzlich die Spermien im Eileiter bei 14 pluriparen Kühen der Nutzungsrichtung Fleisch, die alle nicht laktierten und einen physiologischen Zyklus aufwiesen. Diese wurden 16 Stunden nach der Besamung und Dinoprost-Injektion geschlachtet. MORRISON et al. (1988) fanden auch bei diesem Versuch keinen Unterschied zwischen der Kontrollgruppe und der Gruppe, der  $PGF_{2\alpha}$  verabreicht worden war.

PEÑA et al. (1998) erzielten beim Schwein durch Injektion von Dinoprost in die Submucosa der Vulva bessere Ergebnisse. Sie injizierten in Spanien von Juli bis September den Schweinen bei der Besamung 5 mg Dinoprost. Die Kontrollgruppe erhielt die gleiche Menge einer Kochsalzlösung. Der Unterschied war sowohl bei der Wurfgröße als auch bei der Non-Return-Rate der Sauen statistisch signifikant.

PEÑA et al. (2001) untersuchten den Effekt von 37,5  $\mu$ g Cloprostenol auf die Fruchtbarkeit von Sauen, ebenfalls in Spanien im Sommer von Juli bis September. Es wurden zwei Injektionen beim Absetzen und direkt nach der Besamung in die Labien gemacht. Die Fruchtbarkeit konnte auf diese Weise gesteigert werden, da 27,93 % mehr Sauen in der ersten Woche nach dem Absetzen rauschig wurden als in der Kontrolle. Allerdings konnten weder die Trächtigkeitsraten noch die Wurfgrößen signifikant gesteigert werden.

Dagegen konnten KIRKWOOD et al. (2007) diesen Effekt von PEÑA et al. (1998) nicht bestätigen. Ebenfalls in Spanien und in Italien nutzten sie für ihre Versuche

Schweine, welche 7 Tage nach einer 21-tägigen Säugeperiode rauschig wurden. Die Versuchstiere wurden zweimal im Abstand von 24 Stunden mit handelsüblichem Ebersperma besamt und erhielten beide Mal 175 µg Cloprostenol intramuskulär verabreicht. Dies entspricht der empfohlenen Dosis zur Geburtseinleitung beim Schwein. Sie konnten jedoch keinen signifikanten Effekt in allen Versuchsgruppen nachweisen. Nur in Italien war die Abferkelrate nach Cloprostenolinjektion höher.

BADER et al. (1999) unternahmen einen ähnlichen Versuch an 346 Warmblutstuten. Die Stuten erhielten nach spontaner oder induzierter Ovulation entweder 5 mg Dinoprost intramuskulär oder ein Placebo synchron zur Besamung. 18 Tage später wurde die Trächtigkeitsuntersuchung durchgeführt. Die Injektion von PGF<sub>2α</sub> zeigte während der gesamten Besamungssaison keinen Effekt auf die Trächtigkeitsrate.

HAWK et al. (1982) und SPILMAN und HARPER (1973) konnten beim Kaninchen und EDQUIST et al. (1975) beim Schaf durch systemische Applikation verschiedener Mengen an PGF<sub>2α</sub> die Kontraktionsbereitschaft des Uterus in vivo steigern. Sie verbesserten so den passiven Spermientransport und fanden eine größere Anzahl an Spermien im weiblichen Geschlechtstrakt.

Die Autoren kommen also insgesamt zu sehr unterschiedlichen Ergebnissen. Die systemische Gabe von PGF<sub>2α</sub> zeitgleich zur Besamung hat je nach Versuchsaufbau und Tierart teils einen positiven Effekt auf die Reproduktionsdaten, teils nicht. Tabelle 4 gibt eine Übersicht der durchgeführten Arbeiten zum Effekt systemischer Gaben von PGF<sub>2α</sub> bei der Besamung und ihrer Ergebnisse.



Tabelle 4: Klinische Studien zum Effekt systemischer Gaben von PGF<sub>2α</sub> bei der Besamung (± kein Effekt, + positiver Effekt)

| Studie                   | Tierart              | PGF          | Applikation         | Dosis/Tier | Effekt |
|--------------------------|----------------------|--------------|---------------------|------------|--------|
| GABRIEL et al. 2011      | Milchkühe und Färsen | Dinoprost    | i. m.               | 25 mg      | ±      |
| PATTANIK et al. 2010     | Milchkühe und Färsen | Cloprostenol | i. m.               | 0,25 mg    | ±      |
| KAUFFOLD et al. 2009     | Milchkühe            | Cloprostenol | i. m.               | 0,5 mg     | ±      |
| JAEGER 2005              | Färsen               | Dinoprost    | i. m.               | 25 mg      | +      |
| JAEGER 2005              | Milchkühe            | Dinoprost    | i. m.               | 25 mg      | +      |
| LÓPEZ-GATIUS et al. 2004 | Milchkühe            | Cloprostenol | i. v.               | 0,5 mg     | +      |
| PRINZEN et al. 1991      | Färsen und Kühe      | Cloprostenol | i. v.               | 0,05 mg    | +      |
| ARCHBALD et al. 1992     | Milchkühe            | Dinoprost    | i. m.               | 25 mg      | ±      |
| MORRISON et al. 1988     | Fleischrinder        | Dinoprost    | i. m.               | 25 mg      | ±      |
| PEÑA et al. 1998         | Schweine (Sommer)    | Dinoprost    | Submucosa der Vulva | 5 mg       | +      |
| PEÑA et al. 2001         | Schweine (Sommer)    | Cloprostenol | Labien              | 37,5 µg    | ±      |
| KIRKWOOD et al. 2007     | Schweine             | Cloprostenol | i. m.               | 0,175mg    | ±/+    |
| BADER et al. 1999        | Stuten               | Dinoprost    | i. m.               | 5 mg       | ±      |

### 2.3.1.2 Lokale Applikation

GABRIEL et al. (2011) beschreiben die Ergebnisse eines Versuchs mit lokaler Applikation von PGF<sub>2α</sub> direkt in die Gebärmutter. Sie instillierten einen halben Milliliter sterile Kochsalzlösung, die 0,25 mg Dinoprost enthielt, mit Hilfe einer Inseminationspipette innerhalb einer Minute nach der Besamung. Insgesamt 505 pluripare Kühe und Färsen nahmen an dem Versuch teil. Die Trächtigkeitsuntersuchung fand 8 bis 10 Wochen nach der Besamung mittels transrektaler Palpation statt. Bei den Versuchstieren konnte so eine Trächtigkeitsrate von 66 % erreicht werden gegenüber von 59 % bei Tieren einer Kontrollgruppe, denen eine Kochsalzlösung ohne PGF<sub>2α</sub> instilliert worden war. Dieser Unterschied war allerdings nicht signifikant.

Bei JAEGER (2005) blieb ein ähnlich positiver Effekt auf die Trächtigkeitsrate aus. Er verwendete aber nur einen Bruchteil der Konzentrationen von GABRIEL et al. (2011). Er versetzte Portionen von 0,5 ml verdünnten Spermas von zwei verschiedenen Angusbullen mit 0, 500 und 5000 pg/ml Dinoprost-Tromethamine während des Verdünnungsprozesses. Dies entspricht einer 2- bis 20-fach höheren Konzentration an Prostaglandinen als laut JAEGER (2005) physiologisch im Ejakulat vorkommt. Mit den so hergestellten Portionen mit durchschnittlich  $10 \times 10^6$  Spermien/ml wurden 420 Kreuzungsrinder der Nutzungsrichtung Fleisch besamt. Es konnte am errechneten Kalbetermin kein Unterschied der Konzeptionsraten zwischen den drei Konzentrationen festgestellt werden.

Andere Autoren führten ähnliche Untersuchungen beim Schwein durch, ebenfalls mit sehr unterschiedlichen Ergebnissen.

So experimentierten KIRKWOOD et al. (2007) neben der systemischen Applikation auch mit der intrauterinen Gabe von Cloprostenol. Sie nutzten für ihre Versuche Schweine in Spanien und in Italien, welche 7 Tage nach einer 21-tägigen Säugeperiode brünstig wurden. Die Versuchstiere wurden zweimal im Abstand von 24 Stunden mit handelsüblichem Ebersperma besamt. Jedoch erhöhten sie für die lokale Applikation die Dosis an Cloprostenol auf das 3-fache, um durch Rückfluss von Sperma auftretende Verluste auszugleichen. In diesem Versuch erhielten die Kontrolltiere keine Hormongaben. Es ergaben sich keine Effekte im Vergleich zur Kontrollgruppe.

KOS und BILKEI (2004) besamten über 2300 Sauen, aufgeteilt in eine Versuchsgruppe und eine Kontrollgruppe, in 11 Ferkelerzeugerbetrieben in der

Slovakei. Die Kontrollgruppe wurde ohne PGF<sub>2α</sub>-Zusatz besamt, bei den Tieren der Versuchsgruppe wurden der Besamungsportion 5 mg Dinoprost zugesetzt. So konnten sie die Konzeptionsrate und die Abferkelrate im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant steigern.

HORVAT und BILKEI (2003) erzielten durch den Einsatz von PGF<sub>2α</sub> signifikant bessere Trächtigkeitsraten und größere Würfe. Bei wiederholt umrauschenden Sauen in einem 2000 Sauen umfassenden Ferkelerzeugerbetrieb in Ungarn versetzten sie die Besamungsportionen mit 5 mg Dinoprost-Trometamol. Die Tiere der Kontrollgruppe wurden ohne PGF<sub>2α</sub> besamt. 22 bis 25 Tage später wurde die Trächtigkeitsrate mittels transrektaler Sonografie ermittelt.

Auch WILLENBURG et al. (2003) simulierten eine Situation der verminderten Fertilität, indem sie Schweine mit Konzentrationen von nur  $0,5 \times 10^9$  Spermien pro 80 ml nur ein Mal besamten. Die Versuchsgruppe erhielt Besamungsportionen, welche mit 5 mg Dinoprost versetzt waren. Das Ergebnis war, dass im Vergleich zur Kontrollgruppe die Anzahl der Föten gesteigert wurde und zusätzlich die Frequenz der Uteruskontraktionen in den 2 Stunden nach der Besamung erhöht war. Diese wurden mittels einem MIKRO-TIP® Katheter gemessen, der in den Uterus eingeführt wurde. Auf diese Weise konnten die Druckveränderungen während einer Kontraktion aufgezeichnet werden.

PEÑA et al. (2000) konnten durch Zusatz von 5 mg PGF<sub>2α</sub> zum Inseminat den sommerlichen Reproduktionsleistungsrückgang auffangen. Beim Vergleich verschiedener Fruchtbarkeitsparameter im Jahreslauf fiel auf, dass die Zugaben von 5 mg PGF<sub>2α</sub> (Dinoprost) im Inseminat nur von Juli bis September eine höhere Abferkelrate nach sich zogen. Der Unterschied war allerdings nicht signifikant - nach PEÑA et al. (2000) eine Folge der gesteigerten Abortrate im Sommer. Dagegen konnten sie unabhängig von der Jahreszeit mit den PGF<sub>2α</sub>-Gaben die Non-return-rate reduzieren und die Wurfgröße steigern.

KOZUMPLIK und MARTINEK (1986) verwendeten Cloprostenol für ihre Untersuchungen. Sie versetzten Besamungsportionen von 100 ml mit jeweils 500 ng Cloprostenol und besamten damit pluripare Sauen. KOZUMPLIK und MARTINEK (1986) konnten damit jedoch keine Verbesserung der Trächtigkeitsraten oder der Wurfgröße erzielen.

Ähnliche Versuche führten andere Autoren bei weiteren Tierarten durch. BADER et al. (1999) applizierten Warmblutstuten PGF<sub>2α</sub> sowohl intramuskulär als auch

intrauterin. Sie verdünnten 0,5 mg Dinoprost mit 1,9 ml isotonischer Kochsalzlösung und mischten diese Lösung unter die Besamungsportion. In der Kontrollgruppe wurde nur NaCl-Lösung als Placebo verwendet. Die Trächtigkeitsraten waren in den Gruppen mit PGF<sub>2α</sub>-Zusatz nicht signifikant höher.

SPILMAN und HARPER (1973) besamten Häsinnen mit Sperma, welches mit PGF<sub>2α</sub> versetzt war. Nach 2,5 bis 3 Stunden ligierten sie den Eileiter, um danach die Eizellen zu gewinnen und zu untersuchen. Bei den mit Zugabe von PGF<sub>2α</sub> besamten Häsinnen fanden sie mehr befruchtete Eizellen im Ovidukt.

Beim Schaf versuchten GUSTAFSSON et al. (1975) und EDQUIST et al. (1975) zu klären, ob sich PGF<sub>2α</sub> positiv auf den Spermientransport in der Gebärmutter des Schafes auswirkt und inwieweit sich deren Befruchtungsfähigkeit steigern lässt. Sie konnten die Kontraktilität der Gebärmutter steigern, was mit einer größeren Spermienzahl im Ovidukt einherging.

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass durch die intrauterine Gabe von Prostaglandinen vor allem beim Schwein positive Effekte erzielt werden. Zur Erlangung ähnlicher Erfolge beim Rind fehlen Feldstudien mit großen Kuhzahlen. In Tabelle 5 sind die Ergebnisse der verschiedenen Studien zum Effekt einer intrauterinen Applikation von PGF<sub>2α</sub> bei der Besamung zusammengefasst.

Tabelle 5: Klinische Studien zum Effekt einer intrauterinen Applikation von PGF<sub>2α</sub> bei der Besamung (Applikation 1 = separate Gabe bei der Besamung und 2 = Zusatz zum Inseminat; ± kein Effekt, + positiver Effekt)

| Studie                      | Tierart               | Prostaglandin | Applikation | Dosis      | Effekt |
|-----------------------------|-----------------------|---------------|-------------|------------|--------|
| GABRIEL et al. 2011         | Milchkühe             | Dinoprost     | 1           | 0,25 mg    | ±      |
| JAEGER 2005                 | Fleischrinder         | Dinoprost     | 2           | 0,5 & 5 ng | ±      |
| KIRKWOOD et al. 2007        | Schweine              | Cloprostenol  | 2           | 0,525 mg   | ±      |
| KOS und BILKEI 2004         | Schweine              | Dinoprost     | 2           | 5 mg       | +      |
| HORVAT und BILKEI 2003      | Schweine (Umrauscher) | Dinoprost     | 2           | 5 mg       | +      |
| WILLENBURG et al. 2003      | Schweine              | Dinoprost     | 2           | 5 mg       | +      |
| PEÑA et al. 2000            | Schweine              | Dinoprost     | 2           | 5 mg       | +      |
| KOZUMPLIK und MARTINEK 1986 | Schweine (pluripar)   | Cloprostenol  | 2           | 5 ng       | ±      |
| BADER et al. 1999           | Stuten                | Dinoprost     | 2           | 0,5 mg     | ±      |

## **2.3.2 Auswirkungen in vitro**

### **2.3.2.1 Endogene Prostaglandine**

MAI und KINSELLA (1980) fanden keine Korrelation zwischen dem PGE-Gehalt im Ejakulat und der Motilität der Spermien beim Bullen. Zum gleichen Ergebnis kamen DIMOV und GEORGIEV (1977) beim Schafbock. Sie untersuchten den Zusammenhang zwischen dem Prostaglandingehalt und der Konzentration, der Motilität und der Befruchtungsfähigkeit der Spermien.

SCHLEGEL et al. (1981) wiesen dagegen beim Mann eine negative Korrelation zwischen  $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Gehalt und der Motilität nach. Sie fanden bei Männern mit einer gestörten Fertilität immer eine erhöhte Konzentration an  $\text{PGF}_{2\alpha}$ . Gleichzeitig beschrieben sie das Phänomen, dass die Beweglichkeit der Spermatozoen nach Inkubation mit dem Enzym Prostaglandin-15-Hydroxydehydrogenase drastisch nachließ. HAYASHI et al. (1988) konnten die gleichen Beobachtungen bei Spermien von Mäusen machen. Sie beschrieben eine verminderte Motilität und eine reduzierte In-vitro-Fertilisationsrate nach Inhibition der Prostaglandinsynthese. Die gleichen Inhibitoren verringerten die Akrosomreaktion beim Meerschweinchen. Wohingegen eine Zugabe von  $\text{PGF}_{2\alpha}$  und  $\text{PGE}_2$  diesen Effekt wiederum reduzierte (JOYCE et al. 1987).

Daraus wird ersichtlich, dass  $\text{PGF}_{2\alpha}$  in physiologischen Konzentrationen eine wesentliche Voraussetzung für die ausreichende Motilität der Spermien (SCHLEGEL et al. 1981) und die Auslösung der Akrosomreaktion ist (SHIMIZU et al. 1998), aber in zu hoher Konzentration, wie sie vor allem im Rahmen von Entzündungen auftreten kann, auch toxisch wirkt (COHEN et al. 1977).

### **2.3.2.2 Exogene Prostaglandine**

#### **2.3.2.2.1 Rind**

ABBITT et al. (1977) verdünnten Ejakulate von Bullen mit Verdünner, dem zuvor  $\text{PGF}_{2\alpha}$  in Form eines Trishydroxymethylaminomethan-Salzes zugefügt wurde. So erzielten sie Konzentrationen von 75 bzw. 225 bzw. 675  $\mu\text{g}$   $\text{PGF}_{2\alpha}$  pro ml. Diese Konzentrationen sind im Schnitt  $10^6$ -fach höher als die natürliche. Anschließend lagerten sie das verdünnte Ejakulat mit 60 Millionen beweglichen Spermien pro ml in flüssigem Stickstoff bei  $-180^\circ\text{C}$ .

Nach 3 Monaten tauten sie die eingelagerten 0,5 ml Portionen in 12 Sekunden bei 35 °C auf. Die Motilitätsparameter wurden direkt nach dem Auftauen und nach 2 Stunden bei 38 °C erfasst.

ABBITT et al. (1977) kamen zu dem Ergebnis, dass mit steigender  $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Konzentration die Motilität abnimmt. Dabei hatten 75 µg  $\text{PGF}_{2\alpha}$  pro ml einen geringen Effekt. Ab einer Konzentration von 225 µg  $\text{PGF}_{2\alpha}$  pro ml war die Motilität unter dem Phasenkontrastmikroskop deutlich schlechter. Sie kamen zu dem Schluss, dass die Konzentrationen von 225 µg  $\text{PGF}_{2\alpha}$  pro ml und mehr die Vorwärtsbeweglichkeit herabsetzen. Zusätzlich hatten die 2 Stunden Inkubation bei 38 °C einen signifikanten Einfluss.

HASHIZUME et al. (1984) wählten eine wesentlich geringere Konzentration, deren Größenordnung der natürlichen entsprach. Sie inkubierten verdünntes Bullen- und Eberejakulat mit 0, 1, 10 und 1000 ng/ml  $\text{PGF}_{2\alpha}$  für 3 Stunden bei 37°C. Neben den Motilitätsparametern erfassten sie zusätzlich den Sauerstoff- und Fruktoseverbrauch und die produzierte Menge an Laktat. Ihre Versuche zeigten jedoch keinen Einfluss von  $\text{PGF}_{2\alpha}$  auf die Motilität und den Metabolismus der Spermien.

RAMANA et al. (1989) untersuchten Ejakulate von Büffeln der Rasse Murrah. Sie verdünnten die Ejakulate bei 37 °C, so dass sie 10 Millionen Spermien pro ml enthielten. Die verwendeten Prostaglandine  $\text{PGE}_2$  und  $\text{PGF}_{2\alpha}$  wurden teils einzeln, teils zugleich zu 5 ml Portionen zugegeben. Ziel war es, eine physiologische Konzentration von insgesamt 5 ng/ml zu erreichen, wie sie REDDY et al. (1982) bestimmt hatten. Die Proben lagerten anschließend bei 4 °C. Alle 24 Stunden wurde eine Probe aus der Lagerung genommen und 3 Tage lang der Anteil vorwärtsbeweglicher, lebender und veränderter Spermien erfasst.

Mit der Lagerzeit nahm in allen Proben die Anzahl vorwärtsbeweglicher Spermien ab. Jedoch zeigten nach 72 Stunden die Versuchsgruppen mit exogen zugesetzter Kombination  $\text{PGE}_2$  und  $\text{PGF}_{2\alpha}$  eine signifikant höhere Motilitätsrate als die Kontrollgruppe. Da dieser Effekt allein mit  $\text{PGF}_{2\alpha}$  nicht nachzuweisen war, schrieben RAMANA et al. (1989) ihn dem  $\text{PGE}_2$  zu.

FAYED (1996) gewann sein Probenmaterial aus der Cauda epididymidis von frisch geschlachteten Bullen. Nach der Aufreinigung verdünnte er die Proben auf 50 Millionen Spermien pro ml. Anschließend versetzte er das gewonnene Bullenejakulat mit 0, 300, 600 und 1200 µg/ml  $\text{PGF}_{2\alpha}$  in Form von Dinoprost-Tromethamine und inkubierte es für 4 Stunden bei 37 °C.

Nach 0, 1, 2 und 4 Stunden untersuchte er einen Tropfen der Probe unter dem Mikroskop. Zusätzlich bestimmte er den Gehalt an Transaminasen (ALT und AST) im Medium und machte die gleichen Untersuchungen mit Methylxanthinen.

Mit zunehmendem  $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Gehalt wurde die Motilität geringer und war nach 2 Stunden mit 600 und 1200  $\mu\text{g/ml}$   $\text{PGF}_{2\alpha}$  bei 0 %. Hohe Konzentrationen an exogenem  $\text{PGF}_{2\alpha}$  reduzieren demzufolge die Beweglichkeit der Spermien stark. Zusätzlich kam es laut FAYED (1996) zu einer erheblichen Schädigung der Plasmamembran, da die Konzentration an Transaminasen im extrazellulären Medium anstieg. Bei einer Konzentration von 300  $\mu\text{g/ml}$   $\text{PGF}_{2\alpha}$  blieb ein ähnlich schädlicher Effekt aus.

Die neuesten Studien, die Bullenejakulat in vitro mit  $\text{PGF}_{2\alpha}$  versetzten, stammen aus den Jahren 2005 und 2006. JAEGER (2005) verwendete eine 2- bzw. 20-fach höhere Konzentration als er im Ejakulat des Bullen gemessen hatte. Für sein Experiment nutzte er die Ejakulate von zwei Angusbullen. Er stellte daraus 0,5 ml Portionen mit einer Spermiedichte von  $10^7$  Spermien pro ml her. Dies entspricht der Hälfte der normalen Konzentration einer Besamungsportion. Nach der Zugabe von 0, 500 und 5000  $\text{pg/ml}$  Dinoprost-Tromethamine wurden die Proben tiefgefroren.

Direkt nach dem Auftauen bei 35 °C und nach einer Inkubation bei 38 °C für 3 Stunden hat JAEGER (2005) den Anteil physiologischer und beweglicher Spermien bestimmt. Die exogene Zugabe von  $\text{PGF}_{2\alpha}$  hatte weder einen Effekt auf die Motilität noch auf die Anzahl normaler Spermien in den Proben.

KARAHAN et al. (2006) nutzten Ejakulate von drei gesunden ausgewachsenen Brown Swiss Bullen. Nach der Zugabe der zehnfachen Menge an Verdünner stellten sie zwölf Portionen á 0,5 ml pro Ejakulat her. Sechs dieser Proben versetzten sie bei einer Temperatur von 37 °C mit 0, 125, 250, 500, 1000 und 1500  $\mu\text{g}$  Etiproston und die restlichen sechs mit Metamizol. Anschließend lagerten die Proben bei 4°C. Sie bestimmten den Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien mit einem Lichtmikroskop (400-fache Vergrößerung) nach 0, 1, 2, 4 und 24 Stunden, danach alle 24 Stunden bis zum neunten Tag nach Herstellung.

Die Ejakulate der drei Bullen zeigten keine signifikanten Qualitätsunterschiede. In Abhängigkeit von der Zeit und der Konzentration an  $\text{PGF}_{2\alpha}$  wurde die Motilität unterschiedlich stark beeinflusst. Sie erzielten eine signifikant bessere Motilitätsrate mit Zusatz von 250 und 500  $\mu\text{g/ml}$   $\text{PGF}_{2\alpha}$  nach 24 Stunden. Bei Konzentrationen von 1000, 2000 bzw. 3000  $\mu\text{g/ml}$   $\text{PGF}_{2\alpha}$  war nach spätestens 4 Stunden der Anteil



vorwärtsbeweglicher Spermien signifikant kleiner als in der Kontrollgruppe ohne PGF<sub>2α</sub>.

Die in vitro Untersuchungen an Bullenspermien vor und nach Zugabe von PGF<sub>2α</sub> wurden mittels Schätzverfahren am Lichtmikroskop durchgeführt. Eine Übersicht gibt Tabelle 6. Zur objektiveren Messung der Vorwärtsbeweglichkeit und weiterer Parameter gibt es mittlerweile Computer gestützte Verfahren. So genannte Computer Assisted Sperm Analyzer (CASA) visualisieren und digitalisieren Bilder von Spermien und werten diese bezüglich der individuellen Beweglichkeit jedes Spermiums aus (AMANN und KATZ 2004). So können Veränderungen der Bewegungsmuster nach Zugabe von PGF<sub>2α</sub> objektiver erfasst werden. Obwohl diese computergestützten Verfahren bereits im Routineproduktionsbetrieb von Besamungsstationen etabliert sind (WABERSKI und PETRUNKINA 2007), gibt es solche Untersuchungen bisher nur beim Schwein, beim Rind jedoch nicht.

Tabelle 6: In vitro-Studien zum Effekt von  $\text{PGF}_{2\alpha}$  auf die Motilität von Bullenspermien (- negativer Effekt,  $\pm$  kein Effekt, + positiver Effekt)

| Studie                            | Prostaglandin  | Konzentration  | Zeitintervalle   | Temp.              | Effekt |
|-----------------------------------|--|--|--|--------------------|--------|
| ABBITT<br>et al. 1977             | THAM-Salz von $\text{PGF}_{2\alpha}$                 | 75; 225; 675 $\mu\text{g/ml}$  | 0; 2 Std. nach Auftauen  | -180°C<br>→ 35°C   | -      |
| HASHIZUME<br>et al. 1984          | $\text{PGF}_{2\alpha}$                               | 0,001; 0,01; 1 $\mu\text{g/ml}$  | 0; 3 Std.  | 37 °C              | $\pm$  |
| RAMANA<br>et al. 1989<br>(Büffel) | $\text{PGE}_2$<br>und/oder<br>$\text{PGF}_{2\alpha}$ | 2,5 ng $\text{PGE}_2$ ;<br>1,5 ng $\text{PGF}_{2\alpha}$ ;<br>2,5 + 1,5 und<br>5 + 3 ng<br>$\text{PGE}_2 + \text{PGF}_{2\alpha}$ | 0; 24; 48; 72<br>Std.  | 4 °C               | +      |
| FAYED 1996                        | Dinoprost  | 0; 300; 600;<br>1200 $\mu\text{g/ml}$  | 0; 1; 2; 4 Std.  | 37 °C              | -      |
| JAEGER<br>2005                    | Dinoprost  | 0; 500; 5000<br>pg/ml  | 0, 3 Std.  | → 35 °C<br>→ 38 °C | $\pm$  |
| KARAHAN et<br>al. 2006            | Etiproston   | 250; 500<br>$\mu\text{g/ml}$   | 0; 1; 2; 4; 24;<br>48; 72; 96;<br>120; 144;<br>168; 192; 216<br>Std. | 4 °C               | +      |
|                                   |  | 1000; 2000;<br>3000 $\mu\text{g/ml}$   |  |                    | -      |

### 2.3.2.2.2 Schwein

MÜNSTER et al. (2008) untersuchten den Einfluss von  $\text{PGF}_{2\alpha}$  auf die Motilität der Spermien in verdünntem Ebersperma. Es diente jeweils ein Ejakulat von 32 Ebern der Rasse Pietrain für die Herstellung handelsüblicher Spermaportionen á 90 ml. Diese wurden direkt nach der Abfüllung aus dem Routinebetrieb einer Besamungsstation entnommen. MÜNSTER et al. (2008) versetzten anschließend jeweils drei Portionen mit 1 ml Dinolytic® (5 mg Dinoprost/ml), drei weitere mit 2 ml und drei Portionen dienten als Kontrollgruppe ohne  $\text{PGF}_{2\alpha}$ . Die Lagerung erfolgte bei 17 °C in einem klimatisierten Raum. Die Untersuchungen fanden nach 24, 48 und 72 Stunden bei 38 °C auf einem beheizbaren Objektisch statt. Das System SpermVision™ diente zur EDV-gestützten Analyse der Proben. Erfasst wurden die Dichte (Mrd./ml), die Motilität (%) und die progressive Motilität (%).

Mit 109 µg/ml konnten MÜNSTER et al. (2008) nach 72 Stunden einen signifikanten Einfluss auf die Motilität nachweisen. Dagegen zeigte die zweite Versuchsgruppe bei einer Konzentration von 55 µg/ml im Untersuchungszeitraum keinen Unterschied im Vergleich zur Kontrollgruppe. Außerdem offenbarten die Analysen von MÜNSTER et al. (2008), dass der Maligne Hyperthermie-Genstatus der Eber einen Einfluss auf die Motilität hat, die Interaktion der Dinolytic®-Gabe mit dem Maligne Hyperthermie-Genstatus aber nicht.

YESTE et al. (2008) machten im selben Jahr ähnliche Untersuchungen. Sie nutzten die Ejakulate von 16 geschlechtsreifen Ebern und verdünnten diese im Verhältnis 1:5. Insgesamt acht Teilproben versetzten sie mit natürlichem Dinoprost in verschiedenen Konzentrationen. Drei wurden zusätzlich zu  $\text{PGF}_{2\alpha}$  noch mit Hyaluronsäure oder Koffein behandelt und eine diente als Kontrolle. Sie gaben das  $\text{PGF}_{2\alpha}$  in Konzentrationen von 6,25, 12,5, 25, 50, 100, 125, 250 und 500 µg/ml hinzu. Anschließend lagerten die Proben bei 15 °C. Sie erfassten die Qualitätsparameter bei 37 °C sofort nach  $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Zugabe, nach 1, 3, 6 und 10 Tagen. Dafür verwendeten YESTE et al. (2008) ein CASA-System der Firma Microptic aus Barcelona, bestehend aus einem Phasenkontrastmikroskop (Olympus BX41) und einem PC mit einer Sperm Class Analyser Software (SCA® motility module, Microptic, Barcelona). Vor jeder Messung inkubierten sie die Spermien bei 37 °C für 20 Minuten und führten drei Messungen pro Probe durch.

Die Ergebnisse verdeutlichen, dass Konzentrationen über 125 µg  $\text{PGF}_{2\alpha}$  pro ml zytotoxisch waren. Niedrigere Konzentrationen dagegen wirkten sich nicht toxisch auf

die Spermien aus. Deshalb konnten diese verwendet werden, um nutzbringende Effekte zu erzielen. YESTE et al. (2008) erreichten mit der Zugabe von 25 und 50 µg PGF<sub>2α</sub> pro ml nach sechs und zehn Tagen signifikant bessere Werte als in der Kontrollgruppe.

MAES et al. (2003) bestimmten die gleichen Motilitätsparameter wie YESTE et al. (2008). Sie verwendeten die Ejakulate von 20 Ebern der Rasse Pietrain, um nach der Verdünnung die Auswirkungen von Dinoprost auf die enthaltenen Spermien zu untersuchen. Sie testeten Konzentrationen von 0, 25, 50 und 100 µg PGF<sub>2α</sub> pro ml. Die Motilitätsparameter wurden sofort nach Zugabe, nach 30 Minuten und nach 2 und 24 Stunden erhoben.

Für die Messungen verwendeten MAES et al. (2003) zwei verschiedenen CASA-Systeme: Sperm Quality Analyzer (SQA-IIC) und Hamilton Thorne (HTRCeros 12.1). Mit dem SQA-IIC System waren die Werte in der Versuchsgruppe nur geringfügig besser und mit dem HTRCeros 12.1 ergaben sich keine Unterschiede. Nur die Frequenz der lateralen Kopfbewegungen war in der Kontrollgruppe erhöht.

Somit kamen MAES et al. (2003) zu dem Ergebnis, dass die gewählten Konzentrationen Dinoprost keinen Einfluss auf die gemessenen Motilitätsparameter haben. Sie vermuteten, dass andere Mechanismen dafür verantwortlich sein müssen, wenn PGF<sub>2α</sub> in verdünntem Ebersperma die Fruchtbarkeitsergebnisse in vivo verbessert. In Tabelle 7 sind die Ergebnisse der in vitro-Studien zum Effekt von Prostaglandinen auf die Motilität von Eberspermien aufgeführt.

Tabelle 7: In vitro-Studien zum Effekt von Prostaglandinen auf die Motilität von Eberspermien, gemessen mit einem CASA-System (- negativer Effekt, ± kein Effekt, + positiver Effekt)

| Studie                 | Prostaglandin | Konzentration            | Zeitintervalle           | Temp. | Effekt |
|------------------------|---------------|--------------------------|--------------------------|-------|--------|
| MÜNSTER<br>et al. 2008 | Dinoprost     | 55 µg/ml                 | 24; 48; 72<br>Std.       | 17 °C | ±      |
|                        |               | 109 µg/ml                | 24; 48 Std.              |       | ±      |
|                        |               |                          | 72 Std.                  |       | +      |
| YESTE<br>et al. 2008   | Dinoprost     | 6,25; 12,5; 100<br>µg/ml | 24; 72; 144;<br>240 Std. | 15 °C | ±      |
|                        |               | 25; 50<br>µg/ml          | 144; 240 Std.            |       | +      |
|                        |               | 125; 250; 500<br>µg/ml   | 24; 72; 144;<br>240 Std. |       | -      |
| MAES<br>et al. 2003    | Dinoprost     | 25; 50; 100<br>µg/ml     | 0; 0,5; 2; 24<br>Std.    | 17 °C | ±      |

Die Arbeit von PANDUR und PACALA (2012) beschäftigt sich ebenfalls mit der Frage, ob die Motilität von Eberspermien durch  $\text{PGF}_{2\alpha}$  positiv beeinflusst werden kann. Ihnen standen insgesamt 34 Landrasse Eber zur Verfügung. PANDUR und PACALA (2012) verwendeten kein CASA-System. Ein sachkundiger und erfahrener Untersucher bestimmte mit einem Phasenkontrastmikroskop den Anteil beweglicher Spermien. Jede Zählung umfasste mehrere Gesichtsfelder und mindestens 1000 Spermien. Zusätzlich bestimmten sie mit einem Photometer die Spermienkonzentration, den Prozentsatz beweglicher Spermien und deren Geschwindigkeit.

Als  $\text{PGF}_{2\alpha}$  verwendeten sie Dinoprost-Tromethamine. Davon gaben sie 5 mg in 100 ml verdünntes Ejakulat direkt nach der Verdünnung. Ansonsten untersuchten sie die Proben zu keinem anderen Zeitpunkt. So konnten sie eine Differenz von 17,48

Prozent feststellen, die die Motilität in der Versuchsgruppe im Schnitt besser war. Dieser Unterschied war hochsignifikant.

KOZUMPLIK und MARTINEK (1986) versuchten mit Cloprostenol die Motilität und somit auch den aktiven Transport der Spermien durch den Uterus zu verbessern. Außerdem untersuchten sie den Effekt des synthetischen  $\text{PGF}_{2\alpha}$  auf die Morphologie der Akrosomen. Nach Zugabe von 0,25, 2,5 und 5  $\mu\text{g/ml}$  Cloprostenol untersuchten sie die Proben mittels mikroskopischer Analyse. Sie fanden keinen negativen Effekt bei den Konzentrationen 0,25 und 2,5  $\mu\text{g/ml}$  auf die Motilität noch die Morphologie. Allerdings hatten 5  $\mu\text{g/ml}$  Cloprostenol negative Auswirkungen auf die Beweglichkeit der Spermien.

CEROVSKY und VINTER (1985) stellten ebenfalls einen negativen Einfluss von Cloprostenol auf die Motilität der Eberspermatozoen fest. Bei einer Konzentration von 10 mg  $\text{PGF}_{2\alpha}$  war nach fünf Stunden die Motilität signifikant verringert.

HASHIZUME et al. (1984) gaben Cloprostenol in Konzentrationen von bis zu 1  $\mu\text{g/ml}$  zu verdünntem Ebersperma. Anschließend inkubierten sie die Proben für 3 Stunden bei 37 °C. Sie untersuchten die Auswirkungen auf die Motilität, den Sauerstoffverbrauch, den Fruktoseverbrauch und die Menge an produziertem Laktat. Sie konnten jedoch keine signifikanten Effekte beobachten. Die in vitro-Studien, welche ohne CASA-System arbeiteten, sind in Tabelle 8 aufgeführt.

Tabelle 8: In vitro-Studien zum Effekt von Prostaglandinen auf die Motilität von Eberspermien ohne Verwendung eines CASA-Systems (- negativer Effekt, ± kein Effekt, + positiver Effekt; k. A. – keine Angabe)

| Studie                               | Prostaglandin     | Konzentration           | Zeitintervalle        | Temp.    | Effekt |
|--------------------------------------|-------------------|-------------------------|-----------------------|----------|--------|
| PANDUR<br>und<br>PACALA<br>2012      | Dinoprost         | 50 µg/ml                | direkt nach<br>Zugabe | entfällt | +      |
| KOZUMPLIK<br>und<br>MARTINEK<br>1986 | Cloprostenol      | 0,25; 2,5 µg/ml         | direkt nach<br>Zugabe | entfällt | ±      |
|                                      |                   | 5 µg/ml                 |                       |          | -      |
| CEROVSKY<br>und<br>VINTER<br>1985    | Cloprostenol      | 5 µg/ml                 | 5 Std.                | k. A.    | -      |
| HASHIZUME<br>et al. 1984             | PGF <sub>2α</sub> | 0,001; 0,01; 1<br>µg/ml | 3 Std.                | 37 °C    | ±      |

### 3 Material und Methoden

#### 3.1 Ejakulate

Für die Untersuchungen wurden Besamungsportionen von zehn Bullen der Rasse Deutsche Holstein aus dem Vertrieb der Zucht- und Besamungsunion Hessen eG (ZBH) in Alsfeld in Kooperation mit dem Landesverband Thüringer Rinderzüchter (LTR) aus Erfurt eingesetzt. Die Portionen waren abgefüllt in Mini-Pailletten (à 250 µl) der Firma IMV aus L'Aigle, Frankreich.

Die Ejakulate werden nur dann für die Herstellung von Tiefgefriersperma genutzt, wenn sie gewisse Mindestanforderungen erfüllen. Zusätzlich findet nach jedem Einfrierprozess eine Qualitätskontrolle statt. Der Anteil lebender Spermien und deren Motilität werden nach dem Auftauen beurteilt, bevor die hergestellte Charge zum Verkauf freigegeben wird.

Die verwendeten Pailletten hatten diesen Produktionsprozess einschließlich Qualitätskontrolle bereits durchlaufen. Sie waren in den Jahren 2007 bis 2010 hergestellt und somit bis zum Untersuchungszeitpunkt für eine Dauer von maximal 5 Jahren in flüssigem Stickstoff gelagert worden. Die Produktionsdaten für das jeweils verwendete Sprungdatum sind in Tabelle 9 zu finden. Die Bullen stammten aus 4 deutschen, 3 niederländischen und je einem französischen, dänischen und kanadischen Zuchtbetrieb.

Der verwendete Verdünner war Bioxcell® der Firma IMV (L'Aigle, Frankreich). Er enthält keine tierischen Proteine. Ohne Eidotter oder Milcheiweiß ist Bioxcell®-Verdünner gut geeignet, um verdünntes Sperma unter dem Mikroskop oder mit einem CASA-System zu beurteilen. Zusätzlich enthält Bioxcell® eine Mischung der Antibiotika Lincomycin, Spectinomycin, Gentamycin und Tylosin.

Ausschließlich im Vorversuch wurden zusätzlich selbst hergestellte Midi-Pailletten (à 500 µl) eines Ejakulates des klinikeigenen Bullen „Herbert“ eingesetzt. Dieser gehörte ebenfalls der Rasse Deutsche Holsteins an und stand in der Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere in Gießen. Die verwendeten Verdünner waren Andromed® und Triladyl® der Firma Minitueb Labor- und Abfülltechnik GmbH & Co. KG, Tiefenbach. Es wurden jeweils 20 Portionen hergestellt.



Tabelle 9: Produktionsdaten der verwendeten Bullenejakulate

| Bullenname           | Farbschlag       | Vol. (ml) | Konz. (Mio/ $\mu$ l) | Lebende Samenzellen (%) vor dem Auftauen | Anzahl Pailletten  | Lebende Samenzellen (%) nach dem Auftauen |
|----------------------|------------------|-----------|----------------------|--|--------------------|---|
| Besancon             | Sbt <sup>1</sup> | 2,4       | 1,7                  | 70                                       | 241                | 50  |
| Laudes               | Sbt <sup>1</sup> | 6,0       | 1,8                  | 70                                       | 587                | 50  |
| Demand               | Sbt <sup>1</sup> | 2,7       | 1,8                  | 80                                       | 240                | 65  |
| Toylent              | Sbt <sup>1</sup> | 2,3       | 0,8                  | 65                                       | 116                | 50  |
| Gomez                | Sbt <sup>1</sup> | 4,9       | 1,7                  | 75                                       | 553                | 55  |
| Goldash              | Sbt <sup>1</sup> | 2,7       | 1,2                  | 65                                       | 204                | 50  |
| Sugarboy             | Sbt <sup>1</sup> | 2,0       | 1,2                  | 60                                       | 160                | 50  |
| Conradi              | Rbt <sup>2</sup> | 3,9       | 1,5                  | 65                                       | 378                | 50  |
| Ludini               | Rbt <sup>2</sup> | 3,1       | 1,6                  | 65                                       | 346                | 50  |
| Cantoni              | Rbt <sup>2</sup> | 4,0       | 2,0                  | 65                                       | 551                | 50  |
| Herbert <sup>4</sup> | Sbt <sup>1</sup> | 4,5       | 0,7                  | 70                                       | k. A. <sup>3</sup> | 45  |

1: Schwarzbunt, 2: Rotbunt, 3: keine Angabe, 4: Klinikeigener Bulle im Vorversuch

### 3.2 Prostaglandinpräparate

Zum Einsatz kamen unterschiedliche Prostaglandinpräparate in verschiedenen Konzentrationen. Neben dem natürlichen Dinoprost wurde das synthetische Cloprostenol getestet. Dieses lag als R(+)-Enantiomer in Reinform und als Racemat vor.

Das Präparat Dinolytic® der Firma Pfizer AG aus Karlsruhe enthält als Wirkstoff das Dinoprost. „Dinoprost“ ist die internationale Kurzbezeichnung für natürliches PGF<sub>2 $\alpha$</sub> . Die Chargennummer des verwendeten Präparates war Y06101, das MHD Juni 2013. Synthetisches PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  kam in den Präparaten PGF Veyx forte® und Gonadovet® zum Einsatz. Das Präparat PGF Veyx forte® der Firma Veyx-Pharma GmbH aus Schwarzenborn enthält das Racemat in Form von Cloprostenol-Natrium. Die Chargennummer war 11H257, MHD Juli 2013. Das Präparat Gonadovet® der Firma aniMedica GmbH aus Senden-Bösensell, mit dem R(+)-Enantiomer des

Cloprostenols als Wirkstoff, hatte die Chargennummer 6450211 und das MHD Januar 2013.

Die Firma Veyx-Pharma GmbH stellte zusätzlich die Matrix ihres Präparates zur Verfügung, sodass im Rahmen des Versuchs 1 der Einfluss der Hilfs- und Konservierungsstoffe gesondert überprüft werden konnte. Diese Matrix wird fortan mit „Lösungsmittel“ bezeichnet. Sie enthält die Bestandteile, die in den beiden anderen Präparaten als Matrix enthalten sind.

Tabelle 10 enthält Informationen zu den verwendeten Präparaten mit dem enthaltenen Wirkstoff und den sonstigen Bestandteilen. Die Präparate wurden entsprechend den Lagerungshinweisen in der klinikeigenen Apotheke trocken und lichtgeschützt im Karton gelagert und kamen maximal bis zum 5. Tag nach Eröffnung zum Einsatz.

Tabelle 10: Verwendete Prostaglandinpräparate

| <b>Präparat</b>                                | <b>Wirkstoff (pro ml)</b>                                   | <b>Matrix</b>   |
|--|---|---|
| Dinolytic®                                     | 5 mg Dinoprost<br>(als Dinoprost-Trometamol)                | - Benzylalkohol<br>- Natriumhydroxid<br>- Wasser für Injektionszwecke   |
| PGF Veyx forte®                                | 0,250 mg Cloprostenol<br>(Racemat als Cloprostenol-Natrium) | - Chlorocresol<br>- Citronensäure-Monohydrat<br>- Natriumchlorid<br>- Natriumhydroxid<br>- Natriumcitrat<br>- Wasser für Injektionszwecke |
| Gonadovet®                                     | 0,075 mg R(+)-Cloprostenol<br>(Enantiomer)                  | - Natriumhydroxid<br>- Citronensäure-Monohydrat<br>- Wasser für Injektionszwecke  |
| Lösungsmittel<br>„Sine“ von<br>PGF Veyx forte® | KEIN  | - Chlorocresol<br>- Citronensäure-Monohydrat<br>- Natriumchlorid<br>- Natriumhydroxid<br>- Natriumcitrat<br>- Wasser für Injektionszwecke |

### 3.3 Computergestützte Spermienanalyse

Die computergestützten Motilitätsanalysen wurden mit dem CASA-System (Computer-assisted sperm analysis) SpermVision® der Firma Minitueb Labor- und Abfülltechnik GmbH & Co. KG aus Tiefenbach durchgeführt. Solche Systeme machen eine standardisierte objektive Messung der Motilität und der Spermienkonzentration möglich (VERSTEGEN et al. 2002).

Die verwendete Ausführung befand sich im Andrologielabor der Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere in Gießen und bestand aus folgenden Einzelkomponenten:

- Mikroskop Olympus BX41 (Okular 10 x, Olympus BX41, Fa. Olympus Optical Co. Ltd., Tokyo, Japan) mit integriertem Heiztisch (38 °C)
- Objektiv, negativ-hoch-Kontrast (UPlanFINH 20x/0,5 Ph1, Fa. Olympus Optical Co. Ltd., Tokyo, Japan)
- Hochgeschwindigkeitsdigitalkamera, 60 Bilder/Sekunde („Frame Rate“), Belichtungszeit 1/20.000 Sekunde, schwarz/weiß
- PC mit Intel® Core™ CPU 4400 @ 2.00 GHz, 2.01 GHz, 1.00 GB RAM und 160 GB Festplatte, 19 Zoll Flachbildschirm
- Leja-Kammer, 20 µm Sample, Füllmenge max. 3 µl (Fa. Leja Products B. V., Nieuw-Vennep, Niederlande)

Für die Analysen produzierte die Software SpermVision 3.5® (Firma Minitueb GmbH & Co. KG, Tiefenbach) während jeder Messperiode digitale Aufnahmen des Ejakulates. Entsprechend der in Tabelle 11 aufgeführten Einstellungen wurden die Spermien zuerst als solche identifiziert und anschließend anhand der Motilitätsparameter klassifiziert.

Außerdem waren Vorgaben bezüglich der Anzahl der auszuwertenden Spermien und Gesichtsfelder programmiert. Da es sich um handelsübliche Besamungsportionen handelte, in denen die Anzahl an vorwärtsbeweglichen Spermien pro Paillette eingestellt war, wurde die Obergrenze von 4000 Spermien in keiner Messperiode erreicht und entsprechend jedes Mal acht Felder ausgewertet.

Die Software arbeitete mit Hilfe eines farblichen Overlays. Nach der Identifikation bestimmte sie die jeweils zurückgelegte Strecke und teilte jedem Spermienkopf entsprechend der Klassifikation eine Farbe zu. Abbildung 1 zeigt einen Screenshot zur Verdeutlichung des farblichen Overlays.

Die erste Stufe der Spermienklassifikation unterscheidet bewegliche und unbewegliche Spermien. Die beweglichen werden zusätzlich in orts- und vorwärtsbewegliche unterteilt. Für die Einteilung wurden die aufgeführten Parameter herangezogen und als vorwärtsbewegliche Spermien wurden alle übrigen klassifiziert.

In der zweiten Stufe waren Minimal- und Maximalwerte für die jeweils entscheidenden Parameter eingestellt, die die Einteilung der Bewegungen in linear, nicht linear, kurvenbeweglich und hyperaktiv definierten. Hyperaktiv sind Spermien, wenn sie die Eileiter passieren und bei der Befruchtung. Sie sind dann sehr vital und bewegen sich aber effektiv kaum vorwärts (VERSTEGEN et al. 2002).

SpermVision 3.5® definierte Spermien mit folgenden Parametern als hyperaktiv: VCL > 80  $\mu\text{m/s}$  (Hin- und Herbewegung), LIN < 0,65 (Linearität der Vorwärtsbewegung) und ALH > 6,5  $\mu\text{m}$  (Amplitude der lateralen Kopfauslenkung) (BURKHAM 1984).

Ergänzt wurden die Einstellungen noch bezüglich der nicht beweglichen Spermien. So wurden alle mit AOC > 10 und BCF = 0 und DSL = 0 zusätzlich mit zu dieser Klasse gerechnet.

Tabelle 11: Einstellungen SpermVision 3.5®

| <b>Grundlegende Einstellungen:</b>         |  |
|--|--|
| Erkennung der Spermien                     | von 20 – 100 $\mu\text{m}^2$                                   |
| Vorgaben für die Motilität                 | 8 Felder oder 4000 Spermien                                    |
| Vorgaben für die Konzentration             | 8 Felder   |
| Verhältnis Pixel zu $\mu\text{m}$          | 168 : 100  |
| Tiefe des Gesichtsfeldes (s. Lejakammer)   | 20 $\mu\text{m}$   |
| <b>Level 1 der Spermienklassifikation:</b> |  |
| Nicht bewegliche                           | AOC < 5; BCF < 0,2; VSL < 0,2                                  |
| Ortsbewegliche                             | DSL < 4,5  |
| Vorwärtsbewegliche                         | Alle, die nicht als nicht beweglich oder ortsbeweglich gelten. |
| <b>Level 2 der Spermienklassifikation:</b> |  |
| Hyperaktive                                | VCL > 80; LIN < ,65; ALH > 6,5                                 |
| Linear                                     | STR > ,5; LIN > ,35  |
| Nicht linear                               | STR < ,5; LIN < ,35  |
| Kurvenbeweglich                            | DAP / Radius $\geq$ 3; LIN < ,5                                |
| Benutzerdefiniert nicht beweglich          | AOC > 10 und BCF = 0 und DSL = 0                               |

Abkürzungen: AOC = average orientation change (in  $^\circ$ ); BCF = beat cross frequency, VSL = straight line velocity, DSL = distance straight line, VCL = curvilinear velocity, LIN = linearity, ALH = amplitude of lateral head displacement, STR = straightness, DAP = distance average path

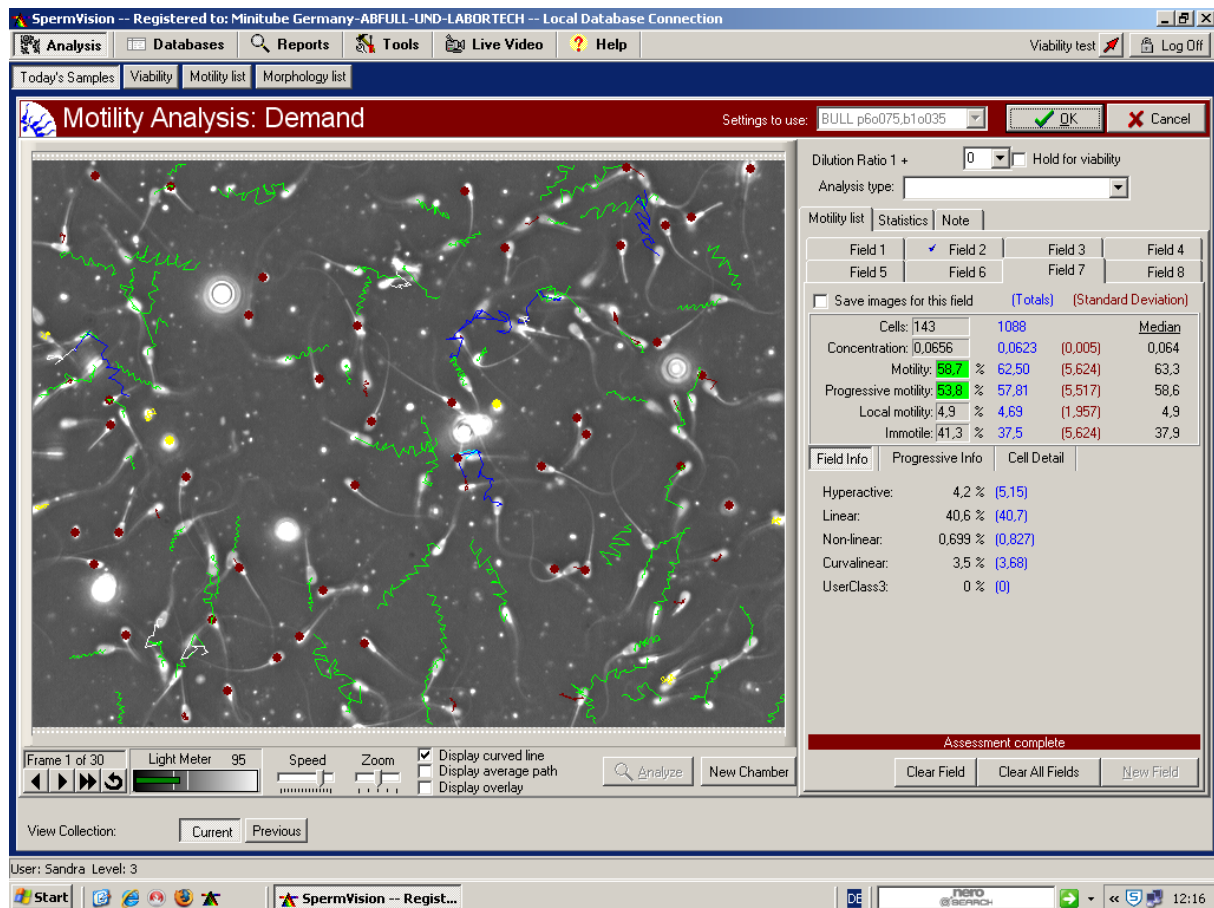


Abbildung 1: Screenshot SpermVision 3.5®: Im linken Bereich ist ein Gesichtsfeld mit dem farblichen Overlay zu sehen, rechts die Messwerte, hier für das Gesichtsfeld 7 von 8 und die entsprechende Spermienklassifikation.

Der Einteilung der Bewegungsmuster in die verschiedenen Klassen lagen folgende Motilitätsparameter zugrunde (VERSTEGEN et al. 2002):

Die VAP (average path velocity in  $\mu\text{m/s}$ ) ist die Geschwindigkeit eines Spermiums entlang einer geglätteten Linie, der DAP (distance average path in  $\mu\text{m}$ ). Diese Linie stellt den jeweils berechneten durchschnittlichen Bewegungsablauf dar. Die VCL (curvilinear velocity in  $\mu\text{m/s}$ ) entspricht der Geschwindigkeit entlang des tatsächlich zurückgelegten Weges. Dieser wird als DCL (distance curved line in  $\mu\text{m}$ ) angegeben. Hinzu kommt die VSL (straight line velocity in  $\mu\text{m/s}$ ) entlang der Strecke zwischen Start- und Endpunkt der Bewegung einer Messperiode. Diese Strecke wird mit DSL (distance straight line in  $\mu\text{m}$ ) bezeichnet.

Die Geschwindigkeitsparameter sind in Abbildung 2 schematisch aufgezeichnet.

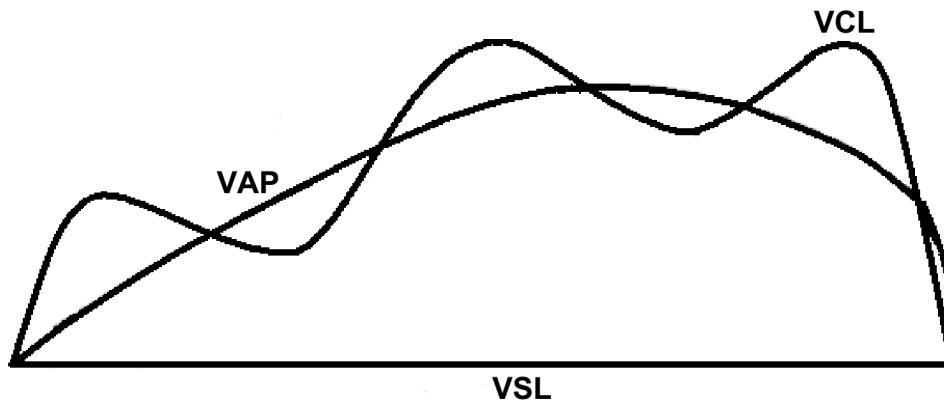


Abbildung 2: Schematische Darstellung der Geschwindigkeitsparameter nach VERSTEGEN et al. (2002)

Abkürzungen: VCL = curvilinear velocity, VAP = average path velocity, VSL = straight line velocity

Diese Beschreibung der Bewegungsmuster und -geschwindigkeiten wurde unter Zuhilfenahme von zusätzlich berechneten Parametern noch weiter präzisiert (BOYER et al. 1989). Dazu zählten die Linearität, die Geradlinigkeit und die Auslenkung der Spermienbewegung. Diese drei Parameter werden in der vorliegenden Arbeit als Anteile (in Form von Dezimalbrüchen) angegeben.

Die Linearität (LIN = linearity) entspricht dem Quotienten  $VSL/VCL$ . Dieser Quotient ist das Verhältnis des tatsächlich durch ein Spermium zurückgelegten Weges zu der kürzesten Strecke zwischen Start- und Endpunkt (VERSTEGEN et al. 2002).

Die Geradlinigkeit (STR = straightness) wird berechnet aus VSL und VAP. Der Quotient  $VSL/VAP$  ist das Verhältnis der Länge der berechneten geglätteten Linie zur tatsächlichen Länge der Strecke zwischen Start- und Endpunkt. Somit ist dieser Parameter ein Maß für die Geradlinigkeit des tatsächlichen durchschnittlichen Bewegungsablaufes (VERSTEGEN et al. 2002).

Der dritte Quotient (WOB = wobble) wird aus VAP und VCL gebildet. Dabei handelt es sich um ein Maß der Auslenkung der Spermienbewegung (Taumelkoeffizient). Der Wert verdeutlicht, wie stark die Spermien in ihrer Bewegung von der berechneten geglätteten Linie abweichen (VERSTEGEN et al. 2002).

Zusätzlich wurden außerdem die Frequenz (Hz) und die Amplitude ( $\mu\text{m}$ ) der lateralen Kopfbewegungen erfasst. Die ALH lässt den Schluss zu, wie vital und energiereich das Flagellum arbeitet und wie oft sich eine Spermienzelle dreht (DAVID et al. 1981). Die lateralen Kopfbewegungen sind somit auch ein Hinweis auf die Fähigkeit der

Spermien, den Zervikalschleim zu passieren und mit der Eizelle zu fusionieren. Dieser Parameter (u.a.) ist vor allem entscheidend für die Klasse der hyperaktiven Spermien (VERSTEGEN et al. 2002).

Tabelle 12 gibt eine Übersicht über alle erfassten Motilitätsparameter. Die von der Software zusätzlich errechnete Spermienkonzentration jeder Probe und die Gesamtzahl der untersuchten Spermien sind nicht mit aufgeführt.

Tabelle 12: Motilitätsparameter in SpermVision 3.5®

| <b>Parameter<br/>(Abkürzung)</b> | <b>Einheit</b> | <b>Bedeutung</b>   |
|----------------------------------|----------------|--|
| Motile                           | %              | Anteil beweglicher Spermien  |
| Progressive                      | %              | Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien an Gesamtzahl beweglicher Spermien           |
| distance curved line<br>(DCL)    | µm             | tatsächlich zurückgelegter Weg während einer Messperiode                         |
| distance average path<br>(DAP)   | µm             | Länge einer geglätteten Linie als berechneter durchschnittlicher Bewegungsablauf |
| distance straight line<br>(DSL)  | µm             | Strecke zwischen Start- und Endpunkt einer Messperiode                           |
| curvilinear velocity<br>(VCL)    | µm/s           | Kurvilineare Geschwindigkeit (DCL pro Zeiteinheit)                               |
| average path velocity<br>(VAP)   | µm/s           | Mittlere Geschwindigkeit (DAP pro Zeiteinheit)                                   |
| straight line velocity<br>(VSL)  | µm/s           | Lineare Geschwindigkeit (DSL pro Zeiteinheit)                                    |
| linearity<br>(LIN)               |                | Linearität der Spermienbewegung<br>VSL/VCL                                       |



|  |               |  |
|--|---------------|--|
| straightnes<br>(STR)                               |               | Geradlinigkeit des durchschnittlichen<br>Bewegungsablaufs<br>VSL/VAP |
| wobble<br>(WOB)                                    |               | Auslenkung der Spermienbewegung<br>VAP/VCL                           |
| beat cross frequency<br>(BCF)                      | Hz            | Frequenz der lateralen Kopfbewegungen                                |
| amplitude of lateral<br>head displacement<br>(ALH) | $\mu\text{m}$ | Amplitude der lateralen Kopfbewegungen                               |

### 3.4 Verwendete Geräte

Außer dem bereits beschriebenen CASA-System SpermVision® (Firma Minitueb Labor- und Abfülltechnik GmbH & Co. KG, Tiefenbach) wurden folgende Laborgeräte und Hilfsmittel verwendet:

- Phasenkontrastmikroskop, Firma Helmut Hund GmbH, Wetzlar, Typ H500, mit einem 40-fachen Objektiv und einer 10-fachen Vergrößerung im Okular
- Objektträger, Firma IDL GmbH & Co. KG, Nidderau, Größe 76 x 26 x 1 mm
- Deckgläser, Firma IDL GmbH & Co. KG, Nidderau
- Wasserbad, Firma Memmert GmbH & Co. KG, Schwabach, Typ WNB 45
- Wärmeschrank, Firma Memmert GmbH & Co. KG, Schwabach, Typ UNB 200
- Wärmetisch, Firma Minitueb Labor- und Abfülltechnik GmbH & Co. KG, Tiefenbach, Typ HT 300
- Vortexer, Firma Heidolph GmbH & Co. KG, Schwabach, Typ REAX 2000
- Reaktionsgefäße Firma Eppendorf GmbH, Hamburg, Typ 3810X, 1,5 ml
- Polypropylen Röhren der Firma Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, 3,5 ml (55 x 12 mm)
- 3 Pipetten, Firma Eppendorf GmbH, Hamburg: Typ „Reference“ für 0-20 µl und 0-50 µl, Typ „Research plus“ für 0-1000 µl
- Pipette der Firma Mettler-Toledo GmbH, Gießen, Typ Rainin LTS 0,5-10 µl

### 3.5 Versuchsdesign

#### 3.5.1 Vorversuch

Der Vorversuch diente zur Ermittlung einer geeigneten Lagertemperatur für die Proben bis zu ihrer Analyse. Zusätzlich wurden die Verdüner Bioxcell®, Andromed® und Triladyl® getestet. Im Vorversuch konnten so negative Einflüsse der Verdüner auf die Spermien beurteilt und ggf. ausgeschlossen werden und zugleich die Eignung der Verdüner für eine CASA-Studie bewertet werden.

Die drei Verdüner sind handelsüblich und werden routinemäßig bei der Herstellung von TG-Sperma eingesetzt. Bioxcell® wird vom Landesverband Thüringer Rinderzüchter verwendet. Laut Herstellerangabe eignet sich Bioxcell® gut für CASA-Studien. Andromed® ist ein Verdünner der Firma Minitueb Labor- und Abfülltechnik GmbH & Co. KG, Tiefenbach. Andromed® enthält ebenfalls keine Inhaltsstoffe tierischen Ursprungs. Dasselbe Unternehmen vertreibt auch Triladyl®, im Vorversuch der einzige Verdünner mit 20 % Eigelbanteil. In allen drei Verdünnern ist das mikrobielle Kontaminationsrisiko durch den Zusatz von Antibiotika gemäß der EU Direktive 88/407, also Lincomycin, Spectinomycin, Gentamycin und Tylosin, auf ein Minimalmaß reduziert.

Für die Herstellung von Besamungsportionen mit Andromed® und Triladyl® wurde der klinikeigene Bulle „Herbert“ abgesamt. Das Ejakulat wurde untersucht, beurteilt, auf eine Konzentration von 200 Mio. Spermien pro ml verdünnt und in Portionen von 0,5 ml tiefgefroren. Die Beweglichkeit vor dem Tieffrieren lag bei geschätzten 70 %.

Die selbst hergestellten Pailletten des Bullen „Herbert“ und die von der ZBH Alsfeld zur Verfügung gestellten Besamungsportionen der beiden Bullen „Besancon“ und „Laudes“ waren Ausgangsmaterial für den Vorversuch. Es kamen von jedem Bullen nur Pailletten von einem Sprungdatum zum Einsatz. Somit stellte die Herstellung eines Gemisches mehrerer Portionen aus einer Charge kein Problem dar.

Der Vorversuch wurde separat für jeden Bullen in je drei Durchgängen durchgeführt. Zu Beginn eines Durchgangs wurden die Reaktionsgefäße auf dem Wärmetisch auf 38 °C vorgewärmt. Anschließend wurden Pailletten von insgesamt 1500 µl (bei den Bullen „Besancon“ und „Laudes“ sechs Pailletten á 250 µl und bei Herbert 3 Pailletten á 500 µl) aus dem flüssigen Stickstoff in das 38 °C warme Wasserbad überführt und dort für 10 Sekunden (Pailletten á 250 µl) bzw. 20 Sekunden (im Durchmesser größere Midi-Pailletten á 500 µl) belassen (BUSCH 2007). Nach dem Auftauen wurden die sechs (bzw. drei) Portionen in einem auf 38 °C vorgewärmten

Eppendorfgefäß zusammengeführt, anschließend innerhalb von höchstens 3 Minuten auf der niedrigsten Stufe mit dem Vortexer durchmischt und in Portionen von 50 µl auf 21 weitere Eppendorfgefäße verteilt. Jeweils sieben dieser Einzelproben wurden im Wärmeschrank (Raumtemperatur: 24 °C), im Wasserbad (35 °C) und im Kühlschrank (4 °C) eingelagert.

Unmittelbar nach dem Einlagern der Einzelproben wurde aus dem Rest der aufgetauten Besamungsportionen ein kleiner Tropfen von etwa 2-4 µl auf einen vorgewärmten Objektträger verbracht und mit einem Deckglas versehen. In diesem Tropfen wurde unter dem Phasenkontrastmikroskop die Vorwärtsbeweglichkeit geschätzt. Dabei wurden Spermien, die bei 400-facher Vergrößerung zwei Drittel des Gesichtsfelds geradlinig durchquerten, als vorwärtsbeweglich eingestuft. Es wurden bei jeder Probe wenigstens drei Gesichtsfelder im Zentrum des Tropfens ausgewertet. Der Rest des Ejakulates wurde verworfen.

Nach zwei Stunden wurde dann jeweils ein Probenröhrchen der drei unterschiedlichen Temperaturen entnommen, im Wasserbad auf die Untersuchungstemperatur von 38 °C gebracht und auf gleiche Weise die Vorwärtsbeweglichkeit geschätzt. Dies erfolgte zweistündlich bis 12 Stunden nach dem Auftauen. Eine letzte Schätzung wurde 24 Stunden nach dem Auftauen durchgeführt.

### **3.5.2 Versuch 1**

In Versuch 1 wurde der Einfluss der drei in Kapitel 3.2 genannten Prostaglandine auf die Motilitätsparameter von Bullenspermien mit Hilfe des CASA-Systems SpermVision® untersucht. Um Auswirkungen der Hilfs- und Konservierungsstoffe in den Prostaglandinpräparaten auf die Spermienmotilität zu erfassen bzw. auszuschließen, wurden diese gesondert getestet.

Es wurde mit Ejakulat der Bullen „Besancon“, „Laudes“ und „Demand“ experimentiert. Der nachfolgend beschriebene Versuchsablauf ist in Abbildung 3 schematisch dargestellt.

Zur statistischen Verbesserung der Aussagekraft wurden je Bulle drei separate Durchgänge mit je folgendem Aufbau durchgeführt:

Jeder Durchgang wurde in die vier Versuchseinheiten (1) Kontrolle (kein Zusatz von Prostaglandinen), (2) Zusatz von Dinoprost, (3) Zusatz von Cloprostenol-Racemat und (4) Zusatz von Cloprostenol-R(+)-Enantiomer unterteilt. In der Einheit (1) wurden

zwei Versuchsreihen für „ohne Lösungsmittel“ und „mit Lösungsmittel“ gebildet. In den Versuchseinheiten (2) bis (4) wurden je drei Versuchsreihen gebildet zur Untersuchung von drei unterschiedlichen Prostaglandin-Konzentrationen in der Probe (Abbildung 3).

Bei der Durchführung der Versuche wurden immer die Einzelproben nur einer Versuchseinheit für den jeweiligen Messzeitpunkt dem Wärmeschrank entnommen und die Motilitätsanalysen erfolgten für die einzelnen Versuchsreihen zeitlich nacheinander. So wurden lange Standzeiten der Einzelproben außerhalb des temperierten Wärmeschrankes vermieden, um die damit verbundenen Umwelteffekte gering zu halten.

Pro Einheit wurden jeweils acht Pailletten Ejakulat aufgetaut, indem sie für 10 Sekunden bei 38 °C ins Wasserbad verbracht wurden. Anschließend wurde der gesamte Inhalt der acht Pailletten in einem Polypropylen-Röhrchen (3,5 ml) gesammelt. Unterschiede der Motilität, wie sie von KJÆSTAD et al. (1993) an unterschiedlichen Stellen der Besamungspaillette nachgewiesen wurden, konnten so ausgeschlossen werden. Alle Reaktionsgefäße waren zuvor auf dem Heiztisch auf 38 °C vorgewärmt worden.

Nach kurzem Vortexen wurden je Versuchsreihe 400 µl aus dem Polypropylen-Röhrchen entnommen, in ein Eppendorfgefäß überführt und je nach Einheit mit der entsprechenden Menge an Dinolytic®, PGF Veyx forte®, Gonadovet® und/oder Lösungsmittel versetzt, direkt mit dem Vortexer durchmischt und in acht Portionen je 50 µl unterteilt, eine für die sofortige Analyse mit dem CASA-System (SpermVision®) (Zeitpunkt 0), der Rest in sieben Eppendorfgefäße zur weiteren Lagerung bei 24 °C im Wärmeschrank für die Motilitätsanalysen nach 2, 4, 6, 8, 10, 12 und 24 Stunden.

Für die zweistündlichen Analysen wurden immer die zwei bzw. drei Einzelproben einer Versuchseinheit aus dem Wärmeschrank entnommen und direkt ins Wasserbad (38 °C) überführt. Dort lagerten sie für 20 Sekunden, um möglichst schnell die optimale Analysetemperatur von 38 °C zu erreichen. Für die zwei bzw. drei nacheinander folgenden Analysen lagerten die Einzelproben anschließend auf dem dazugehörigen Heiztisch (38 °C). Vor der Überführung in die Leja-Kammer wurde jede Einzelprobe erneut mit dem Vortexer gleichmäßig durchmischt.

Es folgt die Beschreibung der vier Versuchseinheiten mit den Zusätzen zu den jeweils 400 µl Ejakulat einer Versuchsreihe:

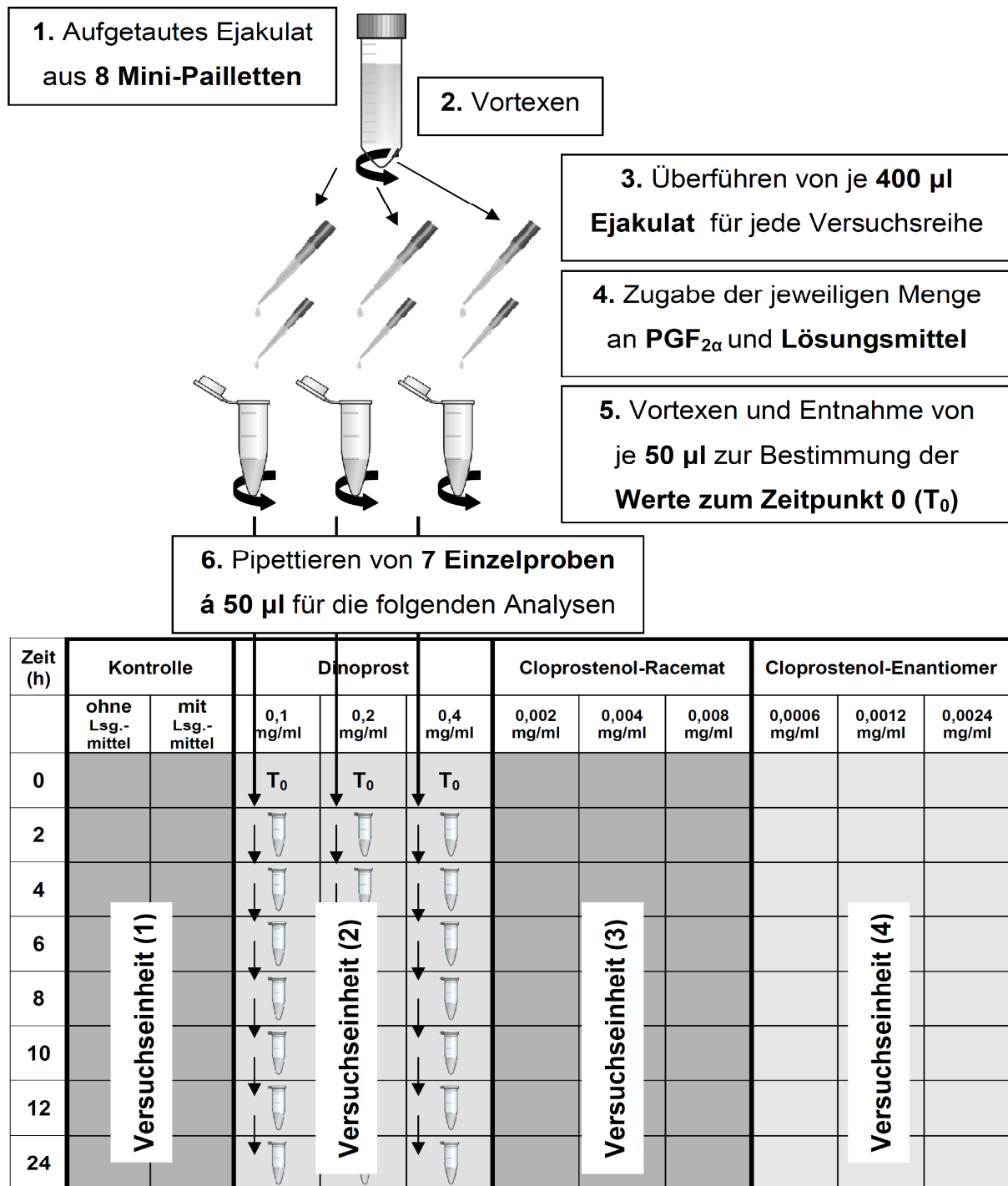
In Einheit (1) wurde die Kontrolle mit Lösungsmittel mit 34,8 µl Lösungsmittel versetzt. Dieses Volumen entspricht dem von Dinolytic® in der höchsten getesteten Konzentration. Die Kontrolle ohne Lösungsmittel verblieb ohne jeglichen Zusatz.

In Versuchseinheit (2) wurden die drei 400 µl-Portionen mit 8,2; 16,7 bzw. 34,8 µl Dinolytic® versetzt, um Konzentrationen von 0,1; 0,2 und 0,4 mg/ml Dinoprost zu erzielen.

In der dritten Versuchseinheit kam das synthetische Cloprostenol in Form eines Racemates zum Einsatz. Das aufgetaute Ejakulat wurde mit 3,3; 6,7 und 13,9 µl PGF Veyx forte® versetzt. Außerdem mussten noch 4,9; 10,0 und 20,9 µl des Lösungsmittels zusätzlich hinzugegeben werden, um Volumenunterschiede zur Versuchseinheit (2) auszugleichen und so Effekte sowohl der Wirkstoffe als auch des enthaltenen Lösungsmittels später vergleichen zu können. Auf diesem Wege wurden Konzentrationen von 0,002; 0,004 und 0,008 mg/ml des Cloprostenol-Racemats in den Proben erreicht.

In Einheit (4) wurde das Prostaglandinpräparat Gonadovet® eingesetzt, ein R(+)-Enantiomer des Cloprostenols. Es wurden dieselben Volumina zugegeben wie in Einheit (3), auch die des zusätzlich zugefügten Lösungsmittels. Allerdings wurden durch die niedrigere Ausgangskonzentration des R(+)-Racemates im Gonadovet® (0,075 mg/ml) geringere Wirkstoffkonzentrationen in den Einzelproben erreicht. Sie waren mit 0,0006; 0,0012 und 0,0024 mg/ml um zwei Drittel geringer als beim Racemat.

Auf diese Art und Weise wurden die insgesamt neun Durchgänge im Zeitraum vom 13. März bis zum 17. April 2012 durchgeführt. Um Umwelteffekte durch die längere Verweilzeit der letzten Probe einer Versuchseinheit auf dem Heiztisch zu reduzieren, wurde die Analysereihenfolge der Proben unterschiedlicher Konzentration von Durchgang zu Durchgang variiert.



Jede Spalte wird als eine **Versuchsreihe** definiert.

**7. Lagerung** bei 24 °C im Wärmeschrank für 2, 4, 6, 8, 10, 12 bzw. 24 Stunden

**8.** Zweistündliche Entnahme der 2 bzw. 3 Einzelproben einer Versuchseinheit und Überführung für 20 Sekunden ins Wasserbad (38 °C)

**9.** Aufeinander folgende **Analysen** der jeweiligen Einzelproben einer Versuchseinheit mit SpermVision®, Lagerung der übrigen Probe(n) bis zur Analyse auf dem Heiztisch (38°C)

Abbildung 3: Schematische Darstellung des methodischen Vorgehens in Versuch 1

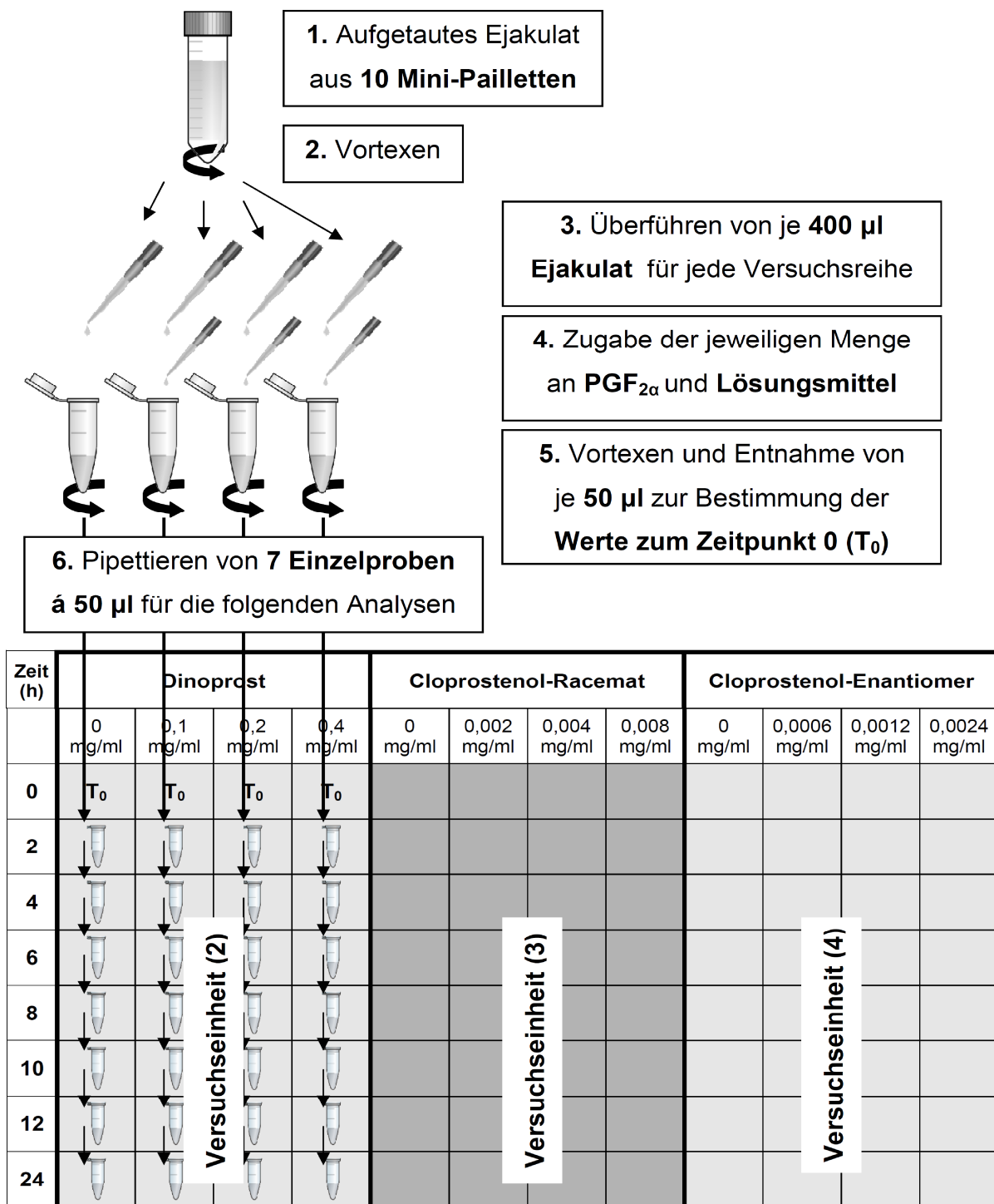
### 3.5.3 Versuch 2

Versuch 2 diente ebenfalls der Untersuchung des Einfluss der drei in Abschnitt 3.2 genannten Prostaglandine auf die Motilitätsparameter von Bullenspermien mit Hilfe des Systems SpermVision®, allerdings ohne weiter die Auswirkungen des Lösungsmittels zu verfolgen und mit einer veränderten Einteilung der Versuchseinheiten. Durch die Integration der Kontrolle in die übrigen Einheiten konnte die Vergleichbarkeit erhöht werden, da das Ejakulat für die jeweilige Kontrolle unter denselben Umwelt- und Auftaubedingungen wie die entsprechenden Proben mit Prostaglandinzusatz vorbereitet wurde. Der Versuchsablauf und die veränderte Einteilung der Versuchseinheiten sind in Abbildung 4 schematisch dargestellt.

Es kam Ejakulat der zehn Bullen aus dem Vertrieb der ZBH Alsfeld aus Tabelle 9 zum Einsatz, jeweils zehn Mini-Pailletten á 250 µl pro Versuchseinheit. Alle Versuchsbedingungen und –abläufe waren mit denen aus Versuch 1 identisch. Es wurden wieder drei Durchgänge pro Bulle durchgeführt. Es wurden die Einheiten (2), (3) und (4) je um eine Versuchsreihe für Ejakulat ohne Zusatz von Prostaglandinen als Kontrollreihe erweitert. Die übrigen Versuchsreihen dieser Versuchseinheiten wurden mit exakt gleichen Volumina, Zusätzen und Konzentrationen durchgeführt wie in Versuch 1.

So wurden im Zeitraum vom 17. April bis zum 16. Mai 2012 insgesamt 30 Durchgänge durchgeführt.





Jede Spalte wird als eine **Versuchsreihe** definiert.

7. **Lagerung** bei 24 °C im Wärmeschrank für 2, 4, 6, 8, 10, 12 bzw. 24 Stunden
8. Zweistündliche Entnahme der 4 Einzelproben einer Versuchseinheit und Überführung für 20 Sekunden ins Wasserbad (38 °C)
9. Aufeinander folgende **Analysen** der jeweiligen Einzelproben einer Versuchseinheit mit SpermVision®, Lagerung der übrigen Proben bis zur Analyse auf dem Heiztisch (38°C)

Abbildung 4: Schematische Darstellung des methodischen Vorgehens in Versuch 2

### **3.6 Auswertung**

Für jeden der insgesamt 13 Motilitätsparameter (Tabelle 12) wurden pro Analyse acht Einzelwerte ermittelt, jeweils einer pro Gesichtsfeld. Aus den acht Einzelwerten errechnete die Software SpermVision 3.5® einen Mittelwert. Diese Mittelwerte bildeten die Grundlage der statistischen Auswertung. Die der Bildung der Mittelwerte zugrunde liegenden Einzelwerte wurden nicht gespeichert.

Die Software konnte neben den Mittelwerten der Motilitätsparameter nur die Attribute Name des Bullen, Rasse, Datum und Uhrzeit jeder Analyse speichern. Deshalb mussten diese Attribute und die weiteren für die hier geplante Versuchsorganisation notwendigen Attribute – Prostaglandinpräparat, Konzentration und Nummer des Durchgangs – ohne Unterstützung der Software SpermVision® durch manuelles Editieren in einer Excel-Datei zusammengeführt werden.

### **3.7 Statistische Verfahren**

Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe Biomathematik und Datenverarbeitung des Fachbereichs Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen. Zur Durchführung der Berechnungen diente das Statistikprogrammpaket BMDP Statistical Software (Release 8.1) der Firma Statistical Solutions Ltd. aus Irland.

Zunächst wurde für jeden Versuch die allgemeine Datenbeschreibung erstellt. Im Vorversuch wurden getrennt nach Lagertemperatur für jeden Zeitpunkt und jeden Bullen die arithmetischen Mittelwerte und die Standardabweichungen der drei Durchgänge berechnet (Tabellen 13 – 15). Für eine bessere Vergleichbarkeit wurden anschließend die arithmetischen Mittelwerte und Standardabweichungen der Vorwärtsbeweglichkeit der Spermien der drei Bullen und drei Durchgänge getrennt nach Lagertemperatur berechnet (Tabelle 16).

In den Versuchen 1 und 2 wurden getrennt nach Motilitätsparameter und Analysezeitpunkt über die insgesamt neun (bzw. dreißig) Durchgänge der drei (bzw. zehn) Bullen der arithmetische Mittelwert und die Standardabweichung berechnet. Diese Ergebnisse sind tabellarisch (Tabellen 17 bis 42 in Anhang 1 und 2) und graphisch in den Abbildungen 6 bis 18 (Versuch 1) bzw. 19 bis 31 (Versuch 2) dargestellt. Die Tabellen und die graphischen Darstellungen wurden mit Hilfe des Programms Microsoft® Office Excel (Microsoft Corporation) erstellt.

Für die Motilitätsparameter aus Tabelle 12 und die Ergebnisse des Vorversuches liegt annähernd eine Normalverteilung vor (Überprüfung der Verteilung durch einen Quantile-Quantile-Plot). Dies war wesentliche Voraussetzung für die anschließende statistische Auswertung.

Für den Vorversuch und die Versuche 1 und 2 wurde je eine vierfaktorielle hierarchische Varianzanalyse nach dem gemischten Modell durchgeführt, um globale Effekte der Prostaglandinpräparate in den verschiedenen Konzentrationen auf die Motilitätsparameter zu erkennen. Der Bulle und die Durchgangsnummer waren dabei die zufälligen Faktoren, der Zeitpunkt und das Präparat zusammen mit der Konzentration die beiden festen Faktoren. Im Vorversuch trat an die Stelle der Wirkstoffkonzentration die Lagertemperatur.

Ergab sich aus der vierfaktoriellen hierarchischen Varianzanalyse ein statistisch signifikanter Einfluss der eingesetzten Konzentrationen auf einen Motilitätsparameter oder signifikante Wechselwirkungen der Faktoren Zeitpunkt und Konzentration, so wurden die Daten für die Zeitpunkte 0 und 2 weiter analysiert. Mit Hilfe des Statistikprogramms BMDP Statistical Software (Release 8.1) der Firma Statistical Solutions Ltd. aus Irland wurde eine dreifaktorielle hierarchische Varianzanalyse durchgeführt.

Ergab sich ein signifikanter Einfluss der zugesetzten Prostaglandinkonzentrationen zu den Zeitpunkten 0 oder 2, wurde anschließend für den jeweiligen Motilitätsparameter ein paarweiser Vergleich aller Gruppenmittelwerte nach Student-Newman-Keuls (SNK-Test) durchgeführt. So wurde zweifelsfrei ermittelt, welches Prostaglandinpräparat in welcher Konzentration eine Wirkung auf die einzelnen Parameter hatte.

Die Zeitpunkte 0 und 2 wurden aufgrund der biologischen Relevanz ausgewählt. Ein gesteigerter Spermientransport in diesem Zeitfenster kann in vivo helfen, eine befruchtungsfähige Population an Spermien im Isthmus des Eileiters zu etablieren (Kapitel 5.2.3).

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Vorversuch

Der Vorversuch lieferte die geschätzten Prozent-Anteile vorwärtsbeweglicher Spermien an der Gesamtzahl Spermien einer Probe. Die Tabellen 13 bis 15 enthalten für jeden Bullen die arithmetischen Mittelwerte sowie die Standardabweichungen der drei Durchgänge. Die Ergebnisse des Vorversuchs wurden zunächst für jede Lagertemperatur getrennt betrachtet. Anschließend wurde untersucht, ob statistisch signifikante Unterschiede zwischen den drei Lagertemperaturen vorliegen und welche Lagertemperatur sich am besten für die Versuche 1 und 2 eignet.

Zum Zeitpunkt 0 waren für jede der drei Temperaturen pro Durchgang und Bulle die Werte gleich (Tabelle 16).

#### 4.1.1 Lagerung im Wasserbad bei 35 °C

Die Mittelwerte und Standardabweichungen der Vorwärtsbeweglichkeiten nach Lagerung bei 35 °C sind für jeden Bullen mit Verdünner in Tabelle 13 aufgeführt.

Der Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien nahm beim Bullen „Herbert“ sehr schnell ab. Nach 2 Stunden im Wasserbad war der Anteil in Triladyl® schon um fast die Hälfte reduziert. Außerdem waren mit  $18,3 \pm 10,4$  % in Triladyl® und  $41,7 \pm 5,8$  % in Andromed® die Vorwärtsbeweglichkeiten zu diesem Zeitpunkt im Vergleich zu den Bullen „Besancon“ ( $46,7 \pm 5,8$  %) und „Laudes“ ( $55,0 \pm 13,2$  %) deutlich schlechter.

In den folgenden zwei Stunden setzte sich diese schnelle Abnahme weiter fort. Vier Stunden nach dem Auftauen bewegten sich im Mittel nur noch  $6,7 \pm 5,8$  % bzw.  $10,0 \pm 0,0$  % der Spermien. Wiederum zwei Stunden später war in Triladyl® und Andromed® in jedem der drei Durchgänge die Vorwärtsbeweglichkeit auf 0 % abgesunken.

Die Spermien im Verdünner Bioxcell® hielten ihre Vorwärtsbeweglichkeit deutlich länger aufrecht. Der Unterschied von Zeitpunkt 0 zum Messpunkt nach zwei Stunden war nur unwesentlich. Nach vier Stunden hatten sowohl die Spermien von „Besancon“ als auch von „Laudes“ im Mittel einige Prozentpunkte im Vergleich zum Startwert eingebüßt, lagen jedoch nicht unter 30 % (Tabelle 13). In den folgenden Motilitätsbeurteilungen verringerte sich jedoch der Anteil vorwärtsbeweglicher

Samenzellen. Bei der 4. Schätzung lag im Mittel noch eine Vorwärtsbeweglichkeit von  $38,3 \pm 7,6$  % bzw.  $26,7 \pm 10,4$  % vor, die 5. Schätzung nach 8 Stunden war bereits deutlich schlechter. Mit  $20,0 \pm 0,0$  % bzw.  $16,7 \pm 2,9$  % war bis zu diesem Zeitpunkt der Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien in den Ejakulaten von „Besancon“ und „Laudes“ um mehr als die Hälfte gesunken. Zehn Stunden nach Auftauen zeigten die Spermien im Mittel noch eine Vorwärtsbeweglichkeit von  $6,7 \pm 2,9$  bzw.  $10,0 \pm 0,0$  %, zwei Stunden später noch  $3,3 \pm 2,9$  bzw.  $5,0 \pm 0,0$  %. Nach 24 Stunden gab es schließlich keine Samenzellen mehr, die sich bewegten.

Außerdem erschwerten in den Proben mit Triladyl® bereits nach 2 Stunden Proteine aus dem enthaltenen Eigelb, die mit der Zeit bei 35 °C denaturiert und verklumpt waren, in Form von kreisrunden Gebilden die Vorwärtsbewegung der Spermien. Unter dem Phasenkontrastmikroskop stellten sich diese Gebilde ähnlich einer Luftblase unter einem Deckglas dar. Innerhalb dieser blasenähnlichen gelb schimmernden Gebilde fanden sich keine Spermien.

Die Ergebnisse des Vorversuchs mit 35 °C Lagertemperatur zeigen, dass im Wasserbad maximal vier Stunden lang vorwärtsbewegliche Spermien vorhanden waren. Diese Temperatur war deshalb nicht geeignet für die nachfolgend durchzuführenden Motilitätsanalysen mit und ohne Prostaglandinzugabe.

Tabelle 13: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Vorwärtsbeweglichkeit (%) der Spermien dreier Bullen in drei verschiedenen Verdünnern nach unterschiedlicher Lagerzeit (h) bei 35 °C

| <b>Zeit (h)</b> | <b>„Besancon“ in Bioxcell®</b> | <b>„Laudes“ in Bioxcell®</b> | <b>„Herbert“ in Triladyl®</b> | <b>„Herbert“ in Andromed®</b> |
|-----------------|--------------------------------|------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| <b>0</b>        | $48,3 \pm 5,8$                 | $57,7 \pm 7,6$               | $33,3 \pm 2,9$                | $45,0 \pm 5,0$                |
| <b>2</b>        | $46,7 \pm 5,8$                 | $55,0 \pm 13,2$              | $18,3 \pm 10,4$               | $41,7 \pm 5,8$                |
| <b>4</b>        | $41,7 \pm 10,4$                | $43,3 \pm 5,8$               | $6,7 \pm 5,8$                 | $10,0 \pm 0,0$                |
| <b>6</b>        | $38,3 \pm 7,6$                 | $26,7 \pm 10,4$              | $0,0 \pm 0,0$                 | $0,0 \pm 0,0$                 |
| <b>8</b>        | $20,0 \pm 0,0$                 | $16,7 \pm 2,9$               | $0,0 \pm 0,0$                 | $0,0 \pm 0,0$                 |
| <b>10</b>       | $6,7 \pm 2,9$                  | $10,0 \pm 0,0$               | $0,0 \pm 0,0$                 | $0,0 \pm 0,0$                 |
| <b>12</b>       | $3,3 \pm 2,9$                  | $5,0 \pm 0,0$                | $0,0 \pm 0,0$                 | $0,0 \pm 0,0$                 |
| <b>24</b>       | $0,0 \pm 0,0$                  | $0,0 \pm 0,0$                | $0,0 \pm 0,0$                 | $0,0 \pm 0,0$                 |

#### 4.1.2 Lagerung im Kühlschrank bei 4 °C

Die nach Lagerung bei 4 °C im Kühlschrank erzielten Ergebnisse sind in Tabelle 14 als Mittelwerte der drei Durchgänge zusammen mit der Standardabweichung aufgeführt.

Die Vorwärtsbeweglichkeiten reduzierten sich in den ersten 12 Stunden in allen Durchgängen nur um wenige Prozentpunkte. Keine der Einzelproben von „Herbert“ mit Triladyl® oder mit Andromed® hatte zwölf Stunden nach dem Auftauen einen geringeren Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien als 20 %. Somit zeigten die Einzelproben zu diesem Zeitpunkt noch eine Vorwärtsbeweglichkeit von fast 50 % des Ausgangswertes.

Die Samenzellen von „Herbert“ in Triladyl® hielten ihre Vorwärtsbeweglichkeit in den ersten 5 Analysen konstant im Mittel auf 33,3 %. Erst nach 10 bzw. 12 Stunden sanken diese Anteile unter 30 %, und zwar auf  $26,7 \pm 2,9$  bzw.  $28,3 \pm 2,9$  %. Nach 24 Stunden gab es unter diesen Bedingungen mit nur noch  $6,7 \pm 2,9$  % Vorwärtsbeweglichkeit einen deutlichen Rückgang, ebenfalls in Andromed® mit  $11,7 \pm 2,9$  %. Der Verlauf war mit Andromed® abweichend. Der Anfangswert lag mit  $45,0 \pm 5,0$  % deutlich höher als im Verdünner mit Eigelb (Triladyl®), stieg nach 2 Stunden auf  $50,0 \pm 5,0$  % an, um dann kontinuierlich mit jedem Intervall abzufallen, auf  $30,0 \pm 0,0$  % nach 10 und auf  $25,0 \pm 5,0$  % nach 12 Stunden.

Die Spermien in Bioxcell® zeigten einen ähnlichen Rückgang, allerdings waren sowohl die Startwerte als auch die Werte nach zwölf Stunden und vor allem nach 24 Stunden insgesamt wesentlich höher als mit Triladyl®. Die Mittlere Vorwärtsbeweglichkeit der Samenzellen von „Besancon“ war mit  $48,3 \pm 5,8$  % zum Zeitpunkt 0 ähnlich hoch wie die von „Herbert“ in Andromed® mit  $45,0 \pm 5,0$  %. Jedoch wiesen die Anteile vorwärtsbeweglicher Spermien in Bioxcell® eine größere Persistenz auf. Die Werte hielten sich in den ersten 5 Analysen fast konstant und sanken nach 10 bzw. 12 Stunden nur um ca. ein Viertel auf  $38,3 \pm 7,6$  bzw.  $35,0 \pm 13,2$  %. Nach 24 Stunden war der Wert von „Besancon“ in Bioxcell® mit  $18,3 \pm 5,8$  % vorwärtsbeweglicher Samenzellen nur geringfügig besser als der von „Herbert“ in Andromed® mit  $11,7 \pm 2,9$  %.

Die Spermien des Bullen „Laudes“ zeigten insgesamt bessere Werte als die der beiden anderen Bullen. Die Anfangswerte lagen mit  $56,7 \pm 7,6$  % im Mittel deutlich über der 50 %-Marke. Diese wurde bei 4 °C erst nach 6 Stunden unterschritten. Die Werte nach 10 bzw. 12 Stunden lagen wieder in demselben Bereich wie die des

Bullen „Besancon“. Mit  $21,7 \pm 2,9$  % Vorwärtsbeweglichkeit nach 24 Stunden hatte „Laudes“ zu diesem Zeitpunkt den besseren Wert. Im letzten Zeitintervall reduzierten sich auch die Werte in den Proben von „Laudes“ deutlich.

Somit würde sich die Lagertemperatur von  $4\text{ °C}$  sehr gut eignen, um Langzeiteffekte von Prostaglandinen auf die Spermien und deren Motilität zu untersuchen. Praxisrelevant wären so gewonnene Erkenntnisse nicht, da  $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Präparate bei der Besamung ggf. intrauterin einzusetzen sind. Die Temperatur in vitro, bei der die möglichen Wirkungen auf Spermien nachgewiesen werden sollen, sollte daher der physiologisch vorherrschenden Körpertemperatur von  $38,0$  bis  $39,0\text{ °C}$  möglichst nahe kommen.

Tabelle 14: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichungen der Vorwärtsbeweglichkeit (%) der Spermien dreier Bullen in drei verschiedenen Verdünnern nach unterschiedlicher Lagerzeit (h) bei  $4\text{ °C}$

| <b>Zeit (h)</b> | <b>„Besancon“ in Bioxcell®</b> | <b>„Laudes“ in Bioxcell®</b> | <b>„Herbert“ in Triladyl®</b> | <b>„Herbert“ in Andromed®</b> |
|-----------------|--------------------------------|------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| <b>0</b>        | $48,3 \pm 5,8$                 | $56,7 \pm 7,6$               | $33,3 \pm 2,9$                | $45,0 \pm 5,0$                |
| <b>2</b>        | $45,0 \pm 5,0$                 | $51,7 \pm 5,8$               | $33,3 \pm 2,9$                | $50,0 \pm 5,0$                |
| <b>4</b>        | $48,3 \pm 5,8$                 | $53,3 \pm 5,8$               | $33,3 \pm 2,9$                | $43,3 \pm 2,9$                |
| <b>6</b>        | $45,0 \pm 5,0$                 | $46,7 \pm 10,4$              | $33,3 \pm 5,8$                | $36,7 \pm 2,9$                |
| <b>8</b>        | $43,3 \pm 7,6$                 | $45,0 \pm 5,0$               | $35,0 \pm 5,0$                | $35,0 \pm 5,0$                |
| <b>10</b>       | $38,3 \pm 7,6$                 | $30,0 \pm 0,0$               | $26,7 \pm 2,9$                | $30,0 \pm 0,0$                |
| <b>12</b>       | $35,0 \pm 13,2$                | $38,3 \pm 10,4$              | $28,3 \pm 2,9$                | $25,0 \pm 5,0$                |
| <b>24</b>       | $18,3 \pm 5,8$                 | $21,7 \pm 2,9$               | $6,7 \pm 2,9$                 | $11,7 \pm 2,9$                |

### 4.1.3 Lagerung bei Raumtemperatur (24 °C)

Die arithmetischen Mittelwerte und Standardabweichungen aus den drei Durchgängen nach Lagerung bei 24 °C sind in Tabelle 15 aufgeführt. Die Startwerte zum Zeitpunkt 0 waren aus o. g. Gründen bei jedem Bullen die gleichen. Danach fielen die Werte bei 24 °C Lagertemperatur von „Besancon“ und „Laudes“ nach etwa gleich bleibendem Niveau erst nach 8 Stunden unter die 50 %-Marke. Die Mittelwerte fielen in den ersten 12 Stunden von  $48,3 \pm 5,8$  bzw.  $56,7 \pm 7,6$  % auf  $36,7 \pm 5,8$  bzw.  $40,0 \pm 10,0$  % ab. Außerdem war nach 24 Stunden noch eine mittlere Vorwärtsbeweglichkeit von fast 20 % gegeben. Während sich bei „Besancon“ und „Laudes“ kaum ein Unterschied zur Lagerung im Kühlschrank zeigte, gab es mit den Proben des Bullen „Herbert“ vor allem in Triladyl® größere Abweichungen.

Während nach Lagerung bei 4 °C die Vorwärtsbeweglichkeiten mit Triladyl® erst nach 10 Stunden unter 30 % fielen, geschah dasselbe bei 24 °C bereits nach 6 Stunden. Danach setzte sich der beschleunigte Abfall auch im Wärmeschrank weiter fort. Mit  $25,0 \pm 8,7$  % nach 8,  $15,0 \pm 5,0$  % nach 10 und  $13,3 \pm 5,8$  % nach 12 Stunden offenbarte der Verdünner Triladyl® schlechtere Eigenschaften als Andromed®: die Samenzellen reduzierten ihre Vorwärtsbeweglichkeit in dem selben Maße wie die entsprechenden Proben im Kühlschrank mit dem großen Unterschied, dass sich bei Raumtemperatur nach 24 Stunden Lagerung keine Spermien mehr bewegten.

Dies zeigte erneut die Nachteile tierischer Proteine im Verdünner. Bereits bei 24 °C Raumtemperatur denaturieren und verklumpen die Proteine. Unter dem Phasenkontrastmikroskop waren dieselben kreisrunden Gebilde zu erkennen, wie bereits in Abschnitt 4.1.1 beschrieben.

Insgesamt ist die Lagerung bei 24 °C im Wärmeschrank unter den untersuchten die beste. Einerseits überleben die Spermien lange genug, um Langzeiteffekte der Prostaglandinzugabe zu erfassen, andererseits ist der Unterschied zur physiologischen Körpertemperatur geringer als im Kühlschrank. Der Verdünner Triladyl® eignet sich jedoch bei dieser Temperatur nicht, da die tierischen Proteine denaturieren und die Spermienbewegung wesentlich behindern.



Tabelle 15: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichungen der Vorwärtsbeweglichkeit (%) der Spermien dreier Bullen in drei verschiedenen Verdünnern nach unterschiedlicher Lagerzeit (h) bei 24 °C

| <b>Zeit (h)</b> | <b>„Besancon“ in Bioxcell®</b> | <b>„Laudes“ in Bioxcell®</b> | <b>Klinikbulle in Triladyl®</b> | <b>Klinikbulle in Andromed®</b> |
|-----------------|--------------------------------|------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| <b>0</b>        | 48,3 ± 5,8                     | 56,7 ± 7,6                   | 33,3 ± 2,9                      | 45,0 ± 5,0                      |
| <b>2</b>        | 51,7 ± 2,9                     | 61,7 ± 2,9                   | 36,7 ± 5,8                      | 43,3 ± 5,8                      |
| <b>4</b>        | 55,0 ± 0,0                     | 58,3 ± 5,8                   | 36,7 ± 2,9                      | 43,3 ± 2,9                      |
| <b>6</b>        | 50,0 ± 5,0                     | 46,7 ± 5,8                   | 26,7 ± 2,9                      | 40,0 ± 0,0                      |
| <b>8</b>        | 41,7 ± 10,4                    | 48,3 ± 2,9                   | 25,0 ± 8,7                      | 38,3 ± 2,9                      |
| <b>10</b>       | 36,7 ± 5,8                     | 45,0 ± 5,0                   | 15,0 ± 5,0                      | 31,7 ± 2,9                      |
| <b>12</b>       | 36,7 ± 5,8                     | 40,0 ± 10,0                  | 13,3 ± 5,8                      | 26,7 ± 2,9                      |
| <b>24</b>       | 16,7 ± 2,9                     | 21,7 ± 2,9                   | 0,0 ± 0,0                       | 0,0 ± 0,0                       |

#### 4.1.4 Festlegung der Lagertemperatur für den Hauptversuch

Es ist deutlich zu erkennen, dass der Bulle „Laudes“ in dem Verdünner Bioxcell® die besten Voraussetzungen für die Versuche 1 und 2 zeigt. Er lieferte in jedem Durchgang sowohl die besten Ausgangswerte zum Zeitpunkt 0 als auch die beste Vorwärtsbeweglichkeit nach 24 Stunden. Ähnlich gut und im Zeitraum der ersten 6 Stunden sogar beständiger zeigte sich das Ejakulat des Bullen „Besancon“ mit demselben Verdünner. Wesentlich schlechter schneiden die selbst hergestellten Besamungsportionen ab. Ursächlich für diesen Umstand sind bei den Spermien in Triladyl® die tierischen Proteine, die über den langen Zeitraum denaturierten. Somit sind Verdünner mit tierischen Proteinen für die folgenden Untersuchungen ungeeignet. Der Verdünner Andromed® hatte in dieser Hinsicht keine Nachteile gegenüber dem Verdünner Bioxcell®, den die ZBH Alsfeld verwendet hatte.

Der Bulle „Herbert“ lieferte in der Spermauntersuchung (Tabelle 9) vor dem Tiefgefrieren keine schlechteren Ergebnisse als die Bullen der ZBH. Es fällt jedoch auf, dass bereits unmittelbar nach dem Auftauen die Vorwärtsbeweglichkeit im Mittel mit  $33,3 \pm 2,9$  % geringer war als die von „Besancon“ bzw. „Laudes“ ( $48,3 \pm 5,8$  % bzw.  $56,7 \pm 7,6$  %). Ursache ist ggf. eine individuelle Gefrieruntauglichkeit des Ejakulats des Klinikbullen oder Mängel bei der manuellen Herstellung der größeren Midi-Pailletten. Aufgrund dieser Ergebnisse sollen die Versuche 1 und 2 mit Besamungsportionen der ZBH Alsfeld durchgeführt werden.

Ähnliche Unterschiede in der Gefriertauglichkeit gibt es vielfach auch zwischen verschiedenen Ejakulaten desselben Bullen. Deshalb wurde im Vorversuch und in den Versuchen 1 und 2 insgesamt nur Pailletten aus einem Ejakulat pro Bulle verwendet, um die spätere Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu verbessern.

Die Ergebnisse des Vorversuchs waren die Grundlage für die Wahl der Lagertemperatur in den beiden Hauptversuchen. In Tabelle 16 sind dazu die arithmetischen Mittelwerte und die Standardabweichung der Vorwärtsbeweglichkeit der Spermien aus den jeweils drei Durchgängen aufgeführt und in Abbildung 5 dargestellt. Die Werte für die Bullen „Besancon“, „Laudes“ und „Herbert“ in Triladyl® und „Herbert“ in Andromed® wurden für jede Lagertemperatur zusammengefasst ( $n = 4$ ).

Die Grafik zeigt, dass der geschätzte Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien an der Gesamtzahl der Spermien bei jeder der drei gewählten Lagertemperaturen mit der

Zeit abnimmt. Dieser Effekt des Faktors Zeit ist statistisch hoch signifikant ( $p < 0,0001$ ).

Außerdem ist der Einfluss der Lagertemperatur entscheidend. Eine Temperatur von 35 °C führt bereits vier Stunden nach dem Auftauen zu einem rapiden Abfall der Vorwärtsbeweglichkeit. Deshalb ist diese Lagertemperatur nicht geeignet für die Untersuchung der Langzeiteffekte der Prostaglandinzugabe.

Die Lagertemperaturen im Kühlschrank (4 °C) und im konstant temperierten Wärmeschrank bei Raumtemperatur (24 °C) lassen keine wesentlichen Vor- oder Nachteile für die Versuche 1 und 2 erkennen. Für die Untersuchung von Langzeiteffekten scheint der Kühlschrank die bessere Variante zu sein, da u. a. bei „Herbert“ in beiden Verdünnern nach 24 Stunden Lagerzeit nur noch im Kühlschrank eine geringe Vorwärtsbeweglichkeit verblieben war. Die Spermien von „Besancon“ und „Laudes“ zeigten jedoch keinen wesentlichen Unterschied zwischen 4 °C im Kühlschrank und 24 °C Raumtemperatur. Bei 4 °C überlebten die Samenzellen also nur geringfügig länger als bei 24 °C.

Die Varianzanalyse ergab einen hoch signifikanten Unterschied zwischen den Lagertemperaturen ( $p = 0,0001$ ). Außerdem sind neben diesem und dem Zeiteffekt auch die Wechselwirkungen zwischen diesen beiden Faktoren hoch signifikant ( $p < 0,0001$ ).

Aufgrund der im Vorversuch ermittelten Ergebnisse wurde die Lagertemperatur für die Versuche 1 und 2 auf 24 °C festgelegt.

Tabelle 16: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichungen der Vorwärtsbeweglichkeit (%) der Spermien der eingesetzten Bullen nach unterschiedlicher Lagerzeit (h) bei drei verschiedenen Lagertemperaturen (35 °C, 24 °C, 4 °C)

| Zeit (h) | 35 °C       | 24 °C       | 4 °C       |
|----------|-------------|-------------|------------|
| 0        | 45,8 ± 9,7  | 45,8 ± 9,7  | 45,8 ± 9,7 |
| 2        | 40,4 ± 15,7 | 48,3 ± 10,8 | 45,0 ± 8,3 |
| 4        | 25,4 ± 19,8 | 48,3 ± 10,1 | 44,6 ± 8,5 |
| 6        | 16,3 ± 19,4 | 40,8 ± 10,3 | 40,4 ± 6,4 |
| 8        | 9,2 ± 10,7  | 38,3 ± 9,8  | 39,6 ± 5,3 |
| 10       | 4,2 ± 5,0   | 32,1 ± 12,6 | 31,3 ± 5,0 |
| 12       | 2,1 ± 2,5   | 29,2 ± 12,0 | 31,7 ± 6,1 |
| 24       | 0,0 ± 0,0   | 9,6 ± 11,3  | 14,6 ± 6,7 |

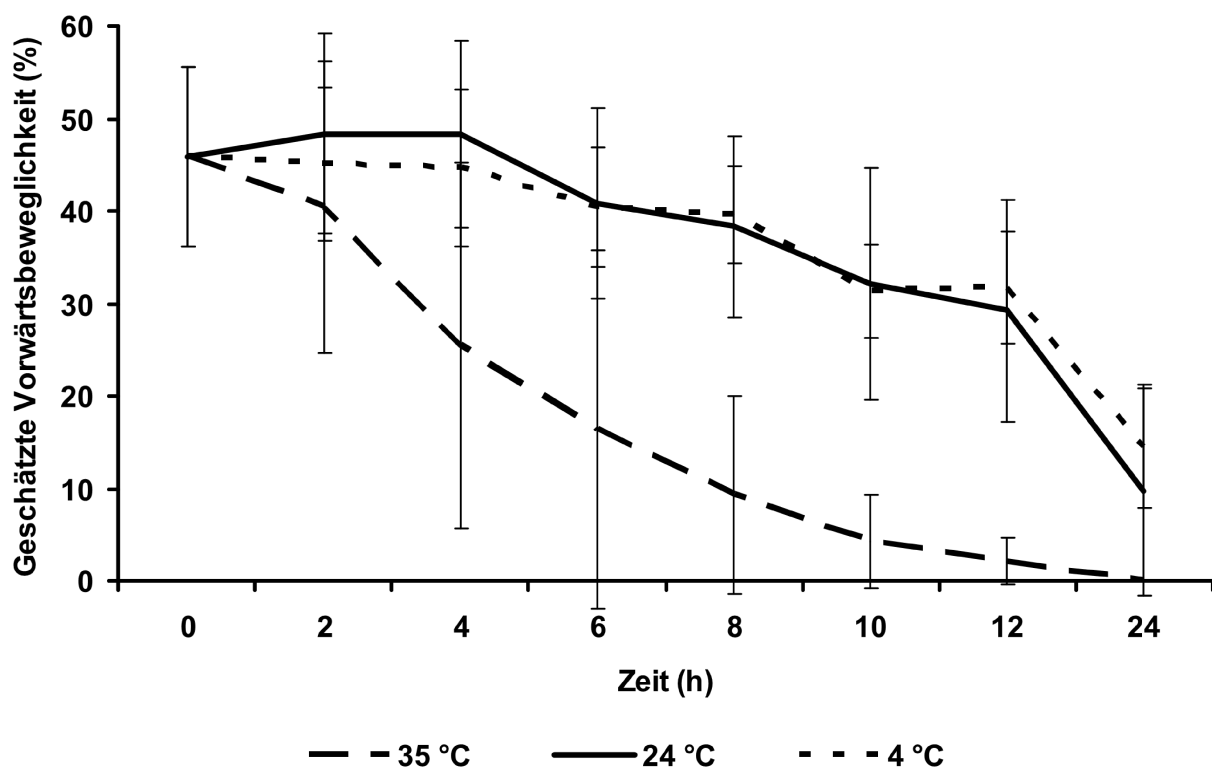


Abbildung 5: Verlauf der arithmetischen Mittelwerte mit Standardabweichung der Vorwärtsbeweglichkeit (%) der Spermien der eingesetzten Bullen (n = 4) über die Zeit (h) bei drei verschiedenen Lagertemperaturen (35 °C, 24 °C, 4 °C)

## 4.2 Versuch 1

In Versuch 1 wurden insgesamt 792 Analysen mit dem System SpermVision® durchgeführt. Es kamen Besamungsportionen von drei verschiedenen Bullen zum Einsatz. Pro Bulle wurden jeweils drei einzelne Versuchsdurchgänge durchgeführt, so dass insgesamt 9 Messwiederholungen für die Auswertung von Versuch 1 zur Verfügung standen.

Der Ergebnisteil für Versuch 1 gliedert sich entsprechend der Anzahl der Motilitätsparameter in 13 Abschnitte. Jeder dieser Abschnitte enthält die allgemeine Datenbeschreibung der gewonnenen Daten und die Ergebnisse der statistischen Auswertung. Im Anhang 1 sind die Resultate in den Tabellen 17 bis 29 festgehalten.

### 4.2.1 Anteil beweglicher Spermien

Die arithmetischen Mittelwerte der Anteile beweglicher Spermien und die Standardabweichungen sind in Tabelle 17 (Anhang 1) aufgeführt. Die Abbildungen 6 bis 8 stellen die Mittelwerte und die Standardabweichung jeweils für die beiden Kontrollen und für jeweils ein Prostaglandinpräparat in den drei verschiedenen Konzentrationen dar.

Zum Zeitpunkt 0 zeigte die Kontrolle ohne Lösungsmittel einen Anteil beweglicher Spermien von  $59,93 \pm 16,11$  %, die Kontrolle mit Lösungsmittel von  $58,52 \pm 17,93$  %. Zwei Stunden später waren die Werte auf  $53,32 \pm 15,77$  % bzw.  $53,92 \pm 16,07$  % gefallen. In den folgenden 10 Stunden blieben die Werte auf diesem Niveau. Bei der letzten Analyse nach 24 Stunden waren die Mittelwerte auf  $49,95 \pm 9,93$  % bzw.  $45,69 \pm 12,42$  % gesunken. Dieser Verlust an beweglichen Spermien im ersten und letzten Zeitintervall war in allen Versuchsreihen zu beobachten.

Nach Zugabe von Dinoprost (Abbildung 6) war die Entwicklung der Anteile beweglicher Spermien über die Zeit annähernd gleich. Dies bestätigte die vierfaktorielle Varianzanalyse. Es ergab sich kein statistisch signifikanter Einfluss der unterschiedlichen Konzentrationen an Dinoprost auf die Anteile beweglicher Spermien ( $p = 0,57$ ). Lediglich der Faktor Zeit hatte einen signifikanten Einfluss ( $p < 0,0001$ ). Signifikante Wechselwirkungen zwischen den beiden Faktoren Zeit und Konzentration zeigten sich nicht ( $p = 0,92$ ).

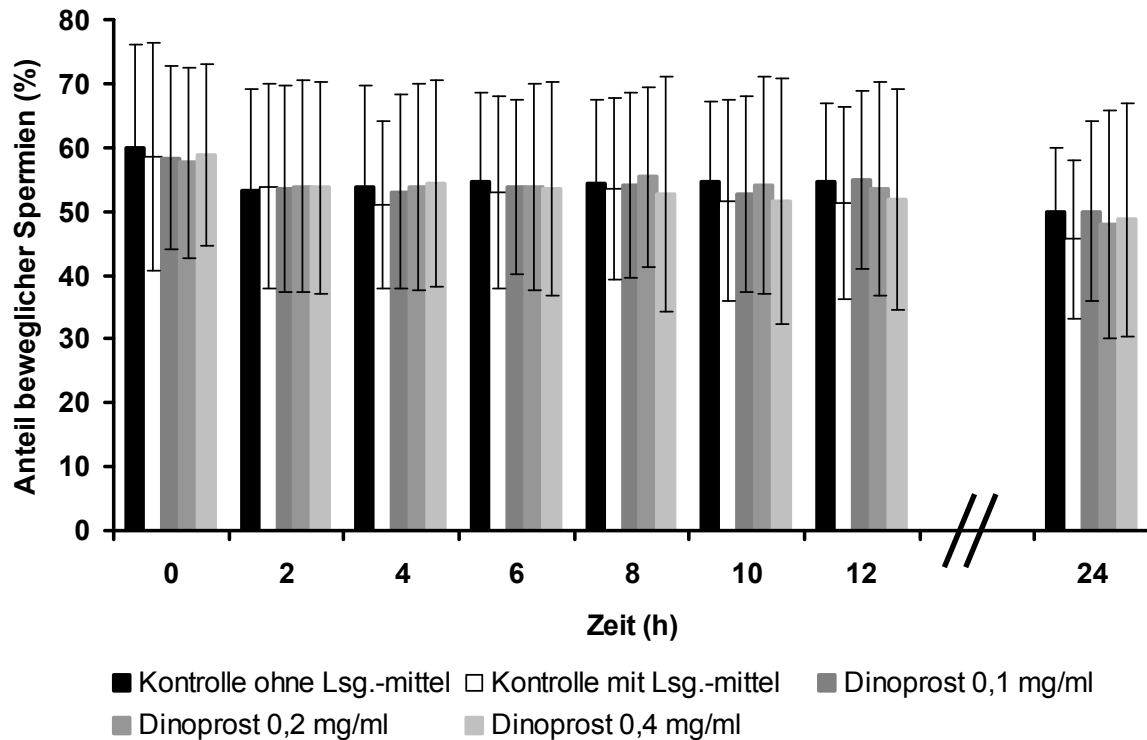


Abbildung 6: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Anteile beweglicher Spermien (%) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen)

Mit Zugabe des Cloprostenol-Racemates (Abbildung 7) konnte dagegen ein statistisch signifikanter Einfluss der Wirkstoffkonzentration nachgewiesen werden ( $p = 0,023$ ). Die dreifaktorielle Varianzanalyse zu den Zeitpunkten 0 ( $p = 0,87$ ) und 2 ( $p = 0,79$ ) zeigte jedoch, dass sich dieser Einfluss erst zu späteren Zeitpunkten ergeben hatte.

Der allgemeinen Datenbeschreibung zufolge zeigte sich der größte Unterschied zu den Kontrollen mit der hohen Konzentration Racemat (0,008 mg/ml). Hier lagen die Werte bereits 4 Stunden nach dem Auftauen nur noch knapp über der 50%-Marke ( $50,28 \pm 16,14$  %). Sie fielen anschließend bis zum letzten Analysezeitpunkt stärker ab (auf  $42,73 \pm 9,16$  %) als die Kontrollen ( $49,95 \pm 9,93$  % bzw.  $45,69 \pm 12,42$  %) und als die Anteile beweglicher Spermien mit geringeren Konzentrationen ( $48,39 \pm 11,93$  % bzw.  $47,38 \pm 13,40$  %).

Der Faktor Zeit hatte mit  $p = 0,003$  einen signifikanten Einfluss auf die Gesamtbeweglichkeit. Globale signifikante Wechselwirkungen zwischen den Faktoren Zeit und Konzentration gab es nicht ( $p = 0,76$ ).

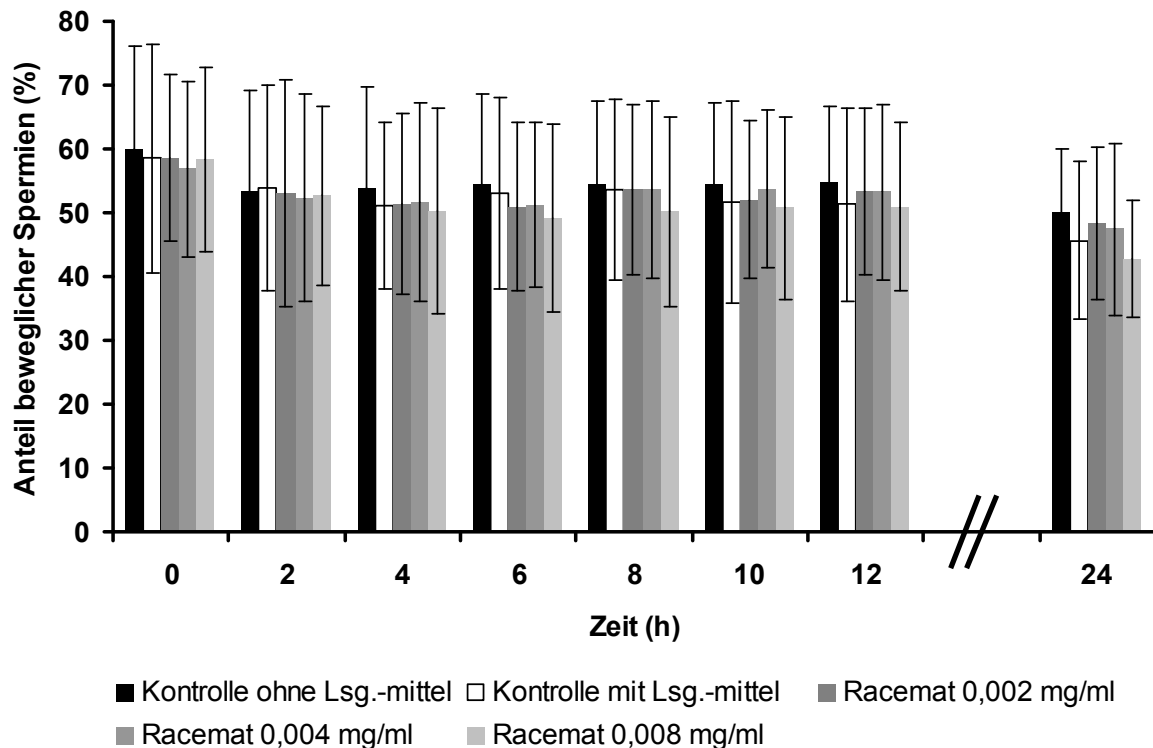


Abbildung 7: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Anteile beweglicher Spermien (%) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen)

Nach Zugabe des Enantiomers (Abbildung 8) war der Einfluss der Wirkstoffkonzentrationen ebenfalls statistisch signifikant ( $p = 0,031$ ). Allerdings bestand zu den Zeitpunkten 0 ( $p = 0,76$ ) und 2 ( $p = 0,83$ ) kein signifikanter Unterschied.

Eine Differenz in der Gesamtbeweglichkeit fand sich gemäß der allgemeinen Datenbeschreibung vor allem in der hohen Konzentration (0,0024 mg/ml) zu späteren Zeitpunkten im Vergleich zur Kontrolle ohne Lösungsmittel. Die Werte glichen annähernd denen mit 0,008 mg/ml Cloprostenol-Racemat. Beide wiesen bereits nach 4 Stunden die geringsten Anteile beweglicher Spermien im Vergleich zu den niedrigeren Konzentrationen und den Kontrollen auf und fielen zusätzlich zum letzten

Messzeitpunkt hin stärker auf  $42,73 \pm 9,16$  % (0,008 mg/ml Cloprostenol-Racemat) bzw.  $43,92 \pm 9,82$  % (0,0024 mg/ml Cloprostenol-Enantiomer) ab.

Der Faktor Zeit hatte einen statistisch signifikanten Einfluss auf den Anteil beweglicher Spermien nach Zugabe des Enantiomers ( $p = 0,0014$ ). Es ergaben sich jedoch keine signifikanten Wechselwirkungen zwischen den eingesetzten Wirkstoffkonzentrationen und der Zeit ( $p = 0,75$ ).

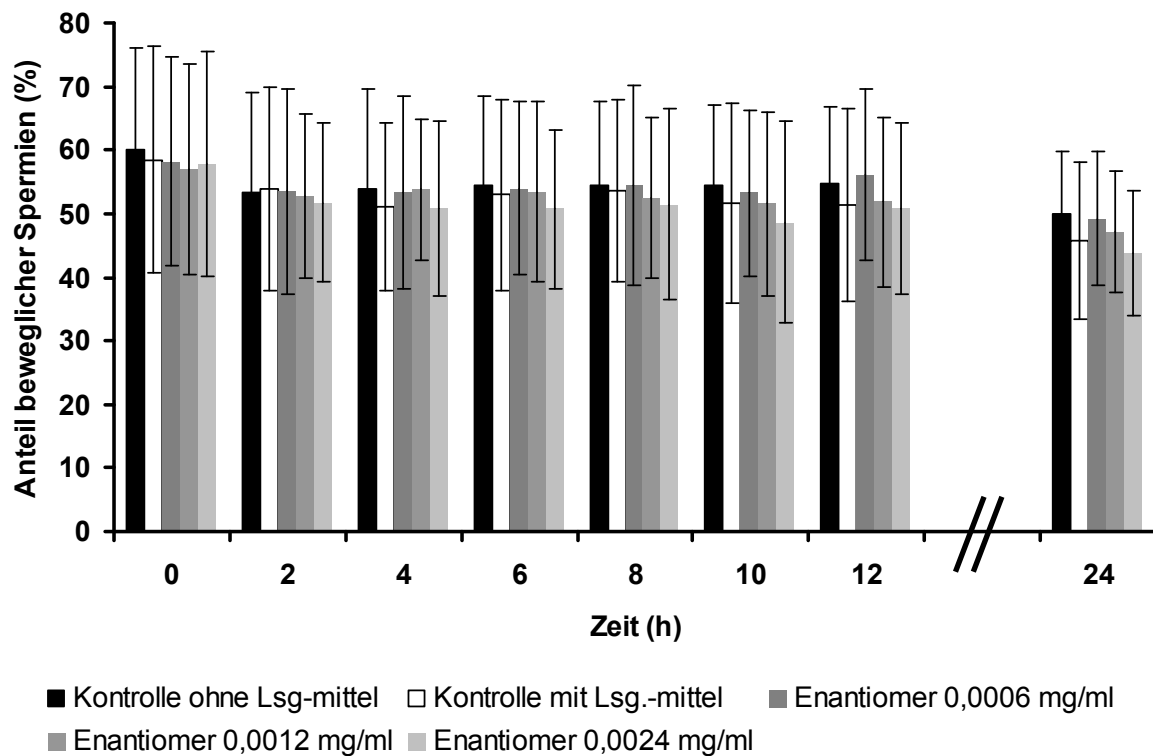


Abbildung 8: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Anteile beweglicher Spermien (%) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen)



#### 4.2.2 Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien

Die Anteile vorwärtsbeweglicher Spermien an der Gesamtzahl beweglicher Spermien sind in Tabelle 18 (Anhang 1) aufgeführt. In den Abbildungen 9 bis 11 sind die arithmetischen Mittelwerte für jeden Messzeitpunkt in der jeweilige Wirkstoffkonzentration und den Kontrollen zusammen mit der Standardabweichung dargestellt.

Die Werte lagen in der Kontrolle ohne Lösungsmittel zum Zeitpunkt 0 bei  $53,55 \pm 16,70$  %, in der Kontrolle mit Lösungsmittel bei  $51,84 \pm 17,80$  %. Die Anteile vorwärtsbeweglicher Spermien nahmen im weiteren Versuchsablauf ab. Sie sanken nach 2 Stunden im Wärmeschrank bereits auf  $45,71 \pm 15,12$  % bzw.  $46,96 \pm 15,07$  % und hielten sich in den 5 darauf folgenden Analysen auf diesem Niveau. Wie schon der Anteil beweglicher Spermien reduzierte sich auch der Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien nach 24 Stunden noch einmal deutlich. Zu diesem Zeitpunkt lagen die Werte bei  $42,23 \pm 8,98$  % ohne und  $38,89 \pm 10,86$  % mit Lösungsmittel.

Die Ergebnisse nach Zugabe von Dinoprost (Abbildung 9) zeigten keinen wesentlichen Unterschied zu den Kontrollen ( $p = 0,76$ ). Die Vorwärtsbeweglichkeit insgesamt reduzierte sich an zwei Zeitpunkten merklich. Sie fiel in allen Konzentrationen nach dem Auftauen bis zur zweiten Analyse und dann noch einmal in den 12 Stunden vor der letzten Messung ab (Faktor Zeit:  $p < 0,0001$ ). Es gab keine signifikanten Wechselwirkungen zwischen den Faktoren Zeit und Wirkstoffkonzentration nach Dinoprostzugabe ( $p = 0,94$ ).

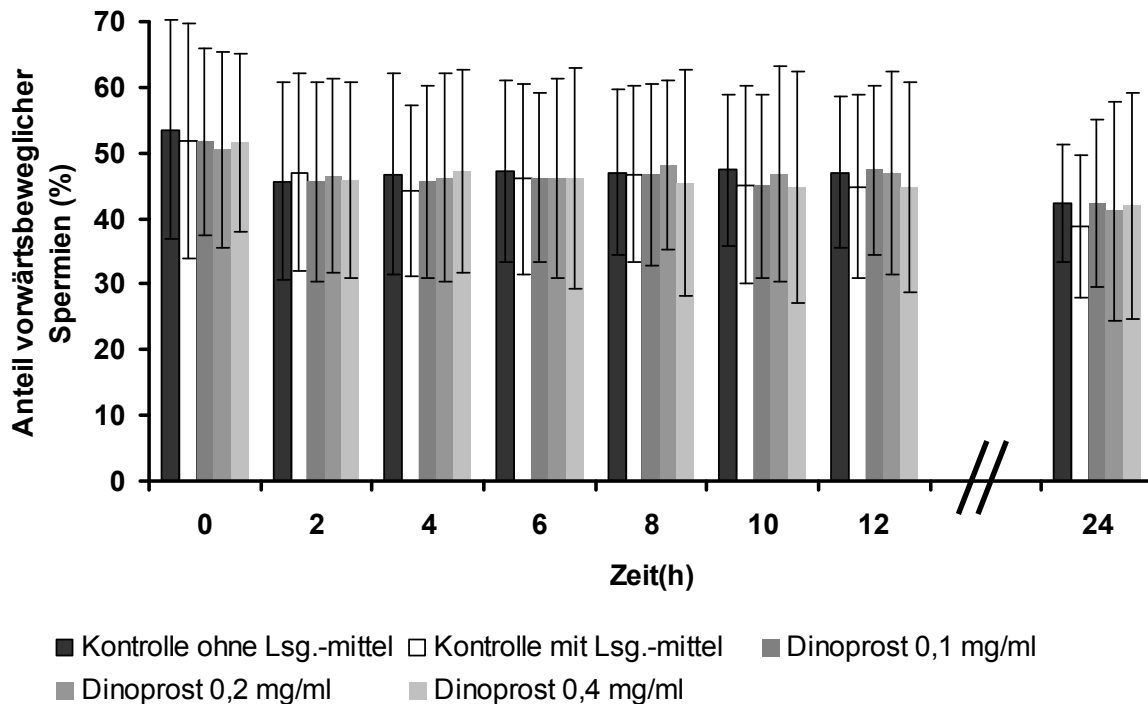


Abbildung 9: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Anteile vorwärtsbeweglicher Spermien an der Gesamtzahl beweglicher Spermien (%) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen)

Mit dem Racemat des Cloprostenols (Abbildung 10) gab es insgesamt statistisch signifikante Unterschiede ( $p = 0,013$ ), jedoch nicht zu den Zeitpunkten 0 ( $p = 0,84$ ) und 2 ( $p = 0,49$ ) gemäß der dreifaktoriellen hierarchischen Varianzanalyse.

Aus der allgemeinen Datenbeschreibung lässt sich entnehmen, dass sich der Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien vor allem in der hohen Konzentration reduzierte. Die Proben mit  $0,008$  mg/ml Racemat wiesen bei der letzten Analyse nach 24 Stunden den geringsten Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien auf ( $35,84 \pm 8,88$  %).

Der Faktor Zeit war mit  $p = 0,0003$  erneut ausschlaggebend für den Rückgang des Anteils vorwärtsbeweglicher Spermien, jedoch ohne signifikante Wechselwirkungen mit den eingesetzten Konzentrationen ( $p = 0,80$ ).

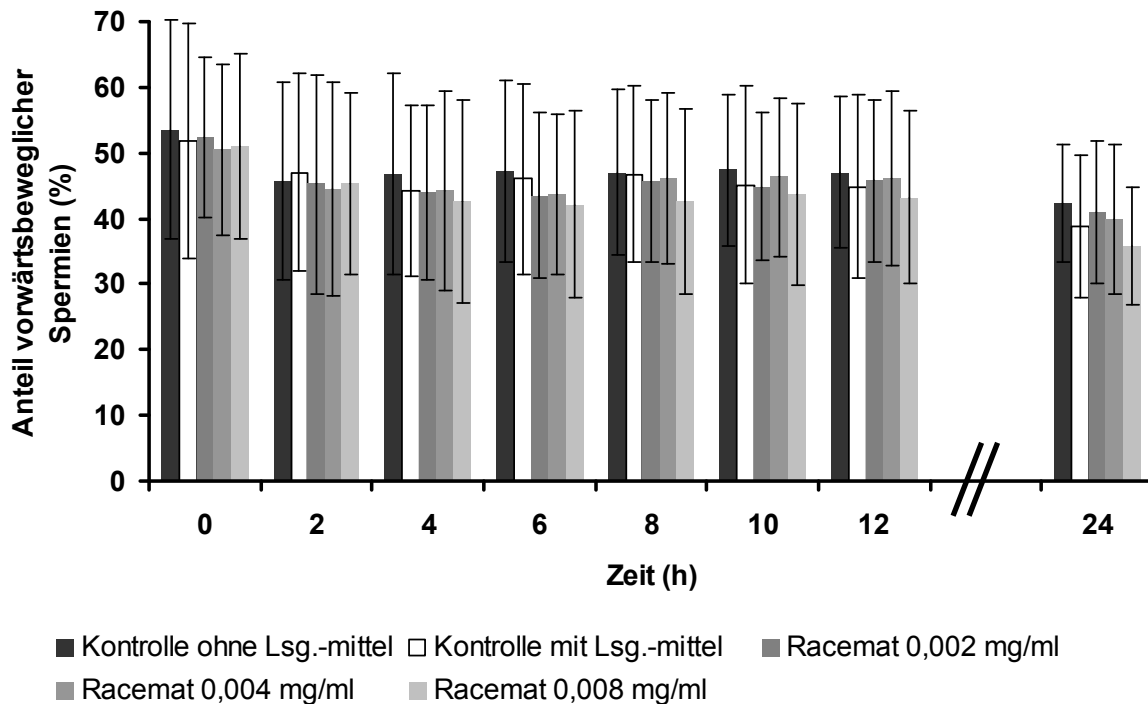


Abbildung 10: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Anteile vorwärtsbeweglicher Spermien an der Gesamtzahl beweglicher Spermien (%) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen)

Nach Zugabe des Enantiomers (Abbildung 11) reduzierte sich der Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien an der Gesamtzahl beweglicher Spermien ebenfalls innerhalb der ersten 2 Stunden nach dem Auftauen und in den letzten 12 Stunden, so dass der Faktor Zeit wiederum einen signifikanten Einfluss ausübte ( $p = 0,0014$ ).

Die Unterschiede zu den Kontrollen waren in der globalen vierfaktoriellen hierarchischen Varianzanalyse mit  $p = 0,020$  signifikant, nach der dreifaktoriellen Varianzanalyse zu den Zeitpunkten 0 ( $p = 0,78$ ) und 2 (0,59) nicht.

Die allgemeine Datenbeschreibung zeigt erneut den größten Unterschied zwischen der hohen Konzentration (0,0024 mg/ml) und der Kontrolle ohne Lösungsmittel nach mehrstündiger Lagerzeit.

Signifikante Wechselwirkungen in der globalen Varianzanalyse zwischen den beiden Faktoren Zeitpunkt und Konzentration gab es nicht ( $p = 0,82$ ).

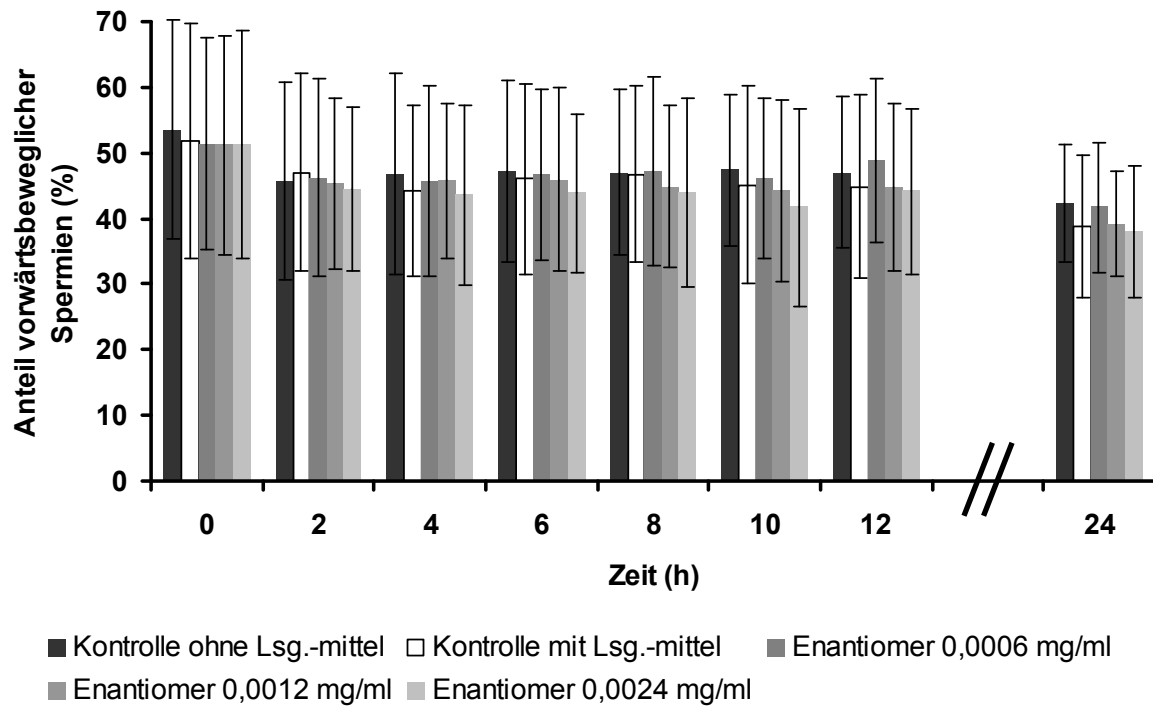


Abbildung 11: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Anteile vorwärtsbeweglicher Spermien an der Gesamtzahl beweglicher Spermien (%) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen)

### 4.2.3 Länge des tatsächlich zurückgelegten Weges (DCL)

Tabelle 19 (Anhang 1) enthält die Mittelwerte und Standardabweichung der Längen des tatsächlich zurückgelegten Weges aus Versuch 1. In den Abbildungen 12 bis 14 werden diese für die Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel und für jeweils ein Prostaglandinpräparat in den drei eingesetzten Konzentrationen dargestellt.

Die Länge des tatsächlich zurückgelegten Weges lag zu Beginn der Untersuchungen im Mittel bei Werten von  $50,17 \pm 5,77 \mu\text{m}$  in der Kontrolle ohne und bei  $55,12 \pm 7,73 \mu\text{m}$  in der Kontrolle mit Lösungsmittelzugabe. Die Längen nach Zugabe von Dinoprost (Abbildung 12) lagen zum Zeitpunkt 0 im Mittel zwischen  $52,01 \pm 5,61 \mu\text{m}$  in der niedrigen und  $54,14 \pm 6,83 \mu\text{m}$  in der hohen Konzentration. Diese blieb über die gesamte Analysezeit konstant. Der Faktor Zeit blieb also bei Zugabe von Dinoprost ohne statistisch signifikanten Einfluss auf die Länge des tatsächlich zurückgelegten Weges ( $p = 0,072$ ).

Die vierfaktorielle hierarchische Varianzanalyse ergab außerdem insgesamt keinen statistisch signifikanten Einfluss der verschiedenen Konzentrationen Dinoprost ( $p = 0,56$ ). Signifikante Wechselwirkungen zwischen den beiden Faktoren gab es ebenfalls nicht ( $p = 0,24$ ).

Im Detail zeigte die dreifaktorielle Varianzanalyse, dass zum Zeitpunkt 0 ein schwach signifikanter Konzentrationseinfluss vorhanden war ( $p = 0,027$ ). Der Unterschied trat in der Kontrolle mit Zugabe von Lösungsmittel auf und war dem SNK-Test zufolge im Vergleich zur Kontrolle ohne Lösungsmittel signifikant ( $p < 0,05$ ). Ansonsten waren keine signifikanten Differenzen zu diesem Zeitpunkt vorhanden. Nach 2 Stunden Lagerzeit war dieser Unterschied ebenfalls nicht mehr nachweisbar ( $p = 0,17$ ). Außerdem zeigt die allgemeine Datenbeschreibung, dass ein derartiger Effekt mit einer Steigerung des tatsächlich zurückgelegten Weges nach Lösungsmittelzugabe im übrigen Versuchsablauf nicht mehr auftrat.

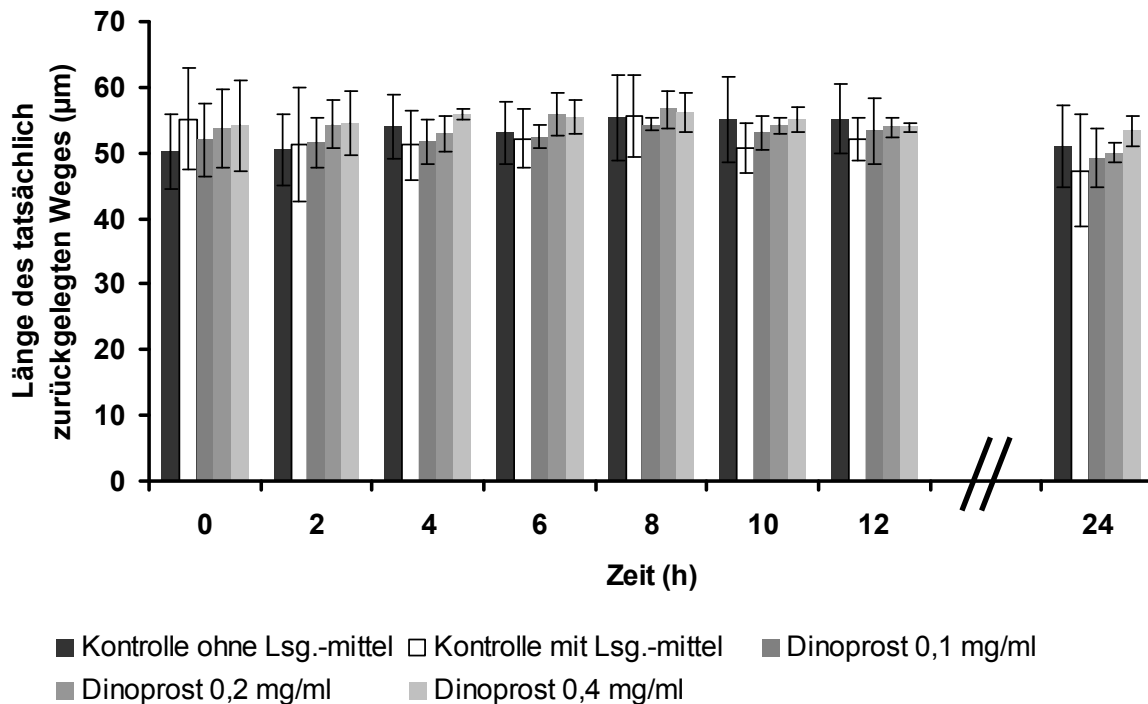


Abbildung 12: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Länge des tatsächlich zurückgelegten Weges ( $\mu\text{m}$ ) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen)

Bei Zugabe der drei Konzentrationen an Cloprostenol-Racemat (Abbildung 13) konnte ebenfalls kein signifikanter Einfluss ( $p = 0,063$ ) des Faktors Zeit auf die Länge des tatsächlich zurückgelegten Weges nachgewiesen werden. Nach Zugabe der hohen Konzentration an Cloprostenol-Racemat ergab sich jedoch die innerhalb 24 Stunden im Vergleich mit allen anderen Versuchsbedingungen kürzeste tatsächlich zurückgelegte Wegstrecke ( $44,26 \pm 7,04 \mu\text{m}$ ).

Nach der vierfaktoriellen Varianzanalyse bestand zwischen den Kontrollen und den Werten nach Zugabe von Cloprostenol-Racemat ein statistisch schwach signifikanter Unterschied ( $p = 0,047$ ). Außerdem ergaben sich signifikante Wechselwirkungen zwischen den Faktoren Zeit und Konzentration ( $p = 0,018$ ). Es konnte jedoch zu keinem Zeitpunkt die tatsächliche Weglänge mit dem Racemat gesteigert werden. Die Werte lagen stets tiefer als in der Kontrolle ohne Lösungsmittel.

Die anschließende dreifaktorielle hierarchische Varianzanalyse ergab keine signifikanten Unterschiede der tatsächlich zurückgelegten Weglängen in den

verschiedenen Konzentrationen zu den ersten beiden Zeitpunkten 0 ( $p = 0,11$ ) und 2 ( $p = 0,48$ ).

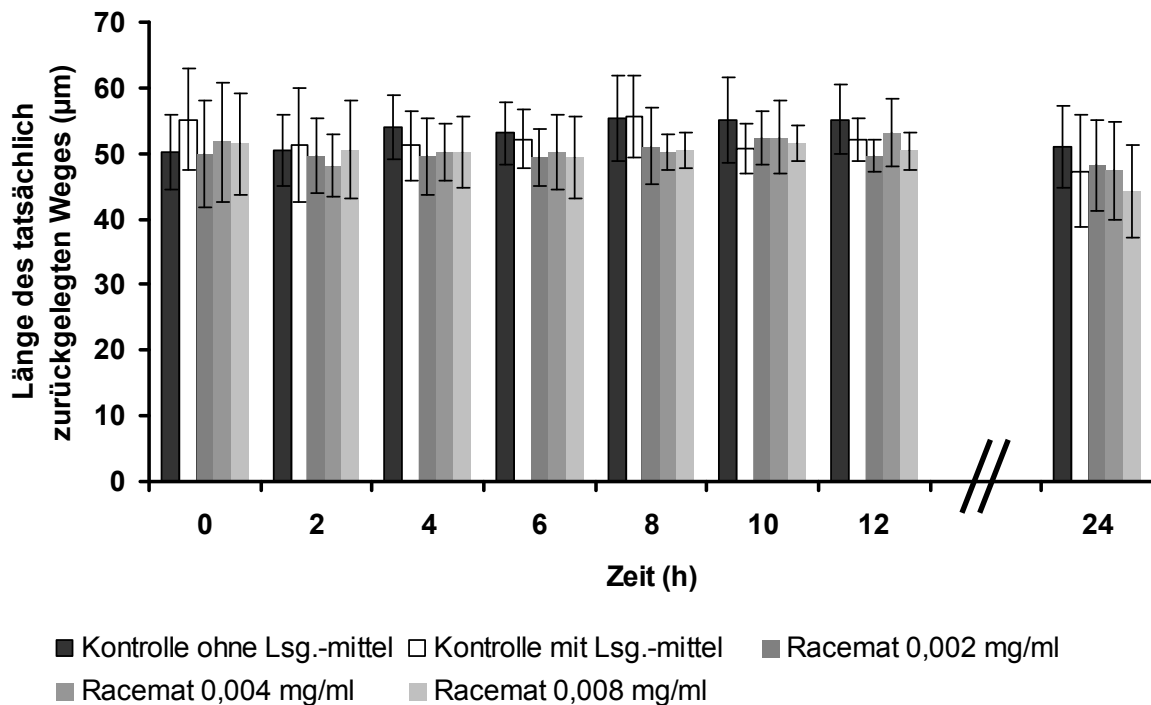


Abbildung 13: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Länge des tatsächlich zurückgelegten Weges ( $\mu\text{m}$ ) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostamol-Racemat zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen)

Nach Zugabe des Cloprostamol-Enantiomers (Abbildung 14) konnte kein statistisch signifikanter Einfluss der verschiedenen Konzentrationen auf die Länge des tatsächlich zurückgelegten Weges nachgewiesen werden ( $p = 0,32$ ). Es gab jedoch signifikante Wechselwirkungen zwischen den Faktoren Zeitpunkt und Konzentration ( $p = 0,031$ ), so dass die fehlende Signifikanz beim Faktor Konzentration ohne Bedeutung bleibt.

Die allgemeine Datenbeschreibung zeigt, dass sich die Werte innerhalb der ersten 12 Stunden auf konstantem Niveau hielten. Im letzten Analyseintervall fielen sie unter 50 %, so dass der Faktor Zeit einen signifikanten Einfluss ausübte ( $p = 0,019$ ).

Nach der dreifaktoriellen hierarchischen Varianzanalyse für den Zeitpunkt 0 hatte die Konzentration einen signifikanten Einfluss auf den tatsächlich zurückgelegten Weg

( $p = 0,011$ ). Nach dem SNK-Test gab es zum Zeitpunkt 0 signifikante Unterschiede zwischen der Kontrolle mit und ohne Lösungsmittel ( $p < 0,01$ ), sowie zwischen den Kontrollen und den drei verschiedenen Konzentrationen Enantiomer ( $p < 0,05$ ).

Nach zwei Stunden Lagerzeit waren diese Effekte nicht mehr vorhanden ( $p = 0,40$ ). Außerdem ist der allgemeinen Datenbeschreibung zufolge die Lösungsmittelzugabe nach 10, 12 und 24 Stunden nachteilig für die tatsächlich zurückgelegte Weglänge.

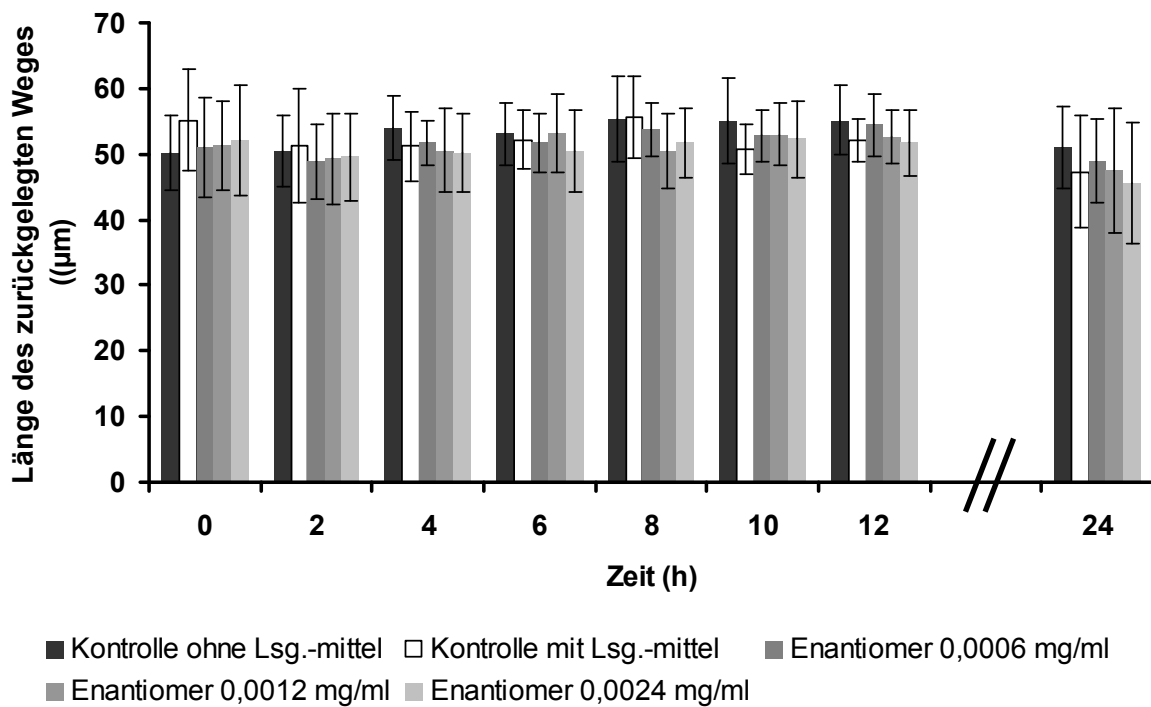


Abbildung 14: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Länge des tatsächlich zurückgelegten Weges ( $\mu\text{m}$ ) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen)



#### 4.2.4 Länge einer geglätteten Linie (DAP)

Der durchschnittliche Bewegungsablauf in Form der berechneten Länge einer geglätteten Linie (Tabelle 20, Anhang 1) wird in den Abbildungen 15 bis 17 für jedes Prostaglandinpräparat getrennt dargestellt, jeweils in Verbindung mit den Kontrollen. Hierfür sind die Mittelwerte und die Standardabweichung aus Versuch 1 in Form eines Balkendiagramms für jeden Messzeitpunkt aufgeführt.

Die Kontrollen ohne und mit Lösungsmittel zeigten zu Beginn der Untersuchungen Mittelwerte von  $27,53 \pm 3,68 \mu\text{m}$  bzw.  $29,42 \pm 3,73 \mu\text{m}$ . Nach 2 Stunden Lagerung reduzierten sie sich nur geringgradig, um sich in den darauf folgenden 10 Stunden nicht wesentlich zu verändern. Erneut folgte ein weiterer Abfall nach 24 Stunden auf Längen von  $25,39 \pm 2,16 \mu\text{m}$  ohne und  $24,71 \pm 3,00 \mu\text{m}$  mit Lösungsmittel.

Nach Zugabe des natürlichen Prostaglandins  $F_{2\alpha}$  (Abbildung 15) waren die Mittelwerte direkt nach dem Auftauen annähernd die gleichen. Außerdem entwickelte sich dieser Parameter mit Dinoprost im Laufe der Lagerzeit nicht anders als in den Kontrollen, so dass kein statistisch signifikanter Unterschied mit den drei verschiedenen Wirkstoffkonzentrationen im Vergleich zu den Kontrollen nachgewiesen werden konnte ( $p = 0,89$ ). Auch der Faktor Zeit blieb in diesem Fall ohne signifikanten Einfluss ( $p = 0,10$ ). Außerdem waren keine signifikanten Wechselwirkungen zwischen den Faktoren Zeit und Wirkstoffkonzentration nachweisbar ( $p = 0,30$ ).

Im Detail gab es im SNK-Test zum Zeitpunkt 0 einen signifikanten Unterschied zwischen den Werten der Kontrolle mit Lösungsmittel und der Kontrolle ohne Lösungsmittel bzw. den Werten nach Zugabe der niedrigen und hohen Konzentration Dinoprost ( $p < 0,05$ ). Zwei Stunden später war kein signifikanter Einfluss mehr nachweisbar ( $p = 0,90$ ).

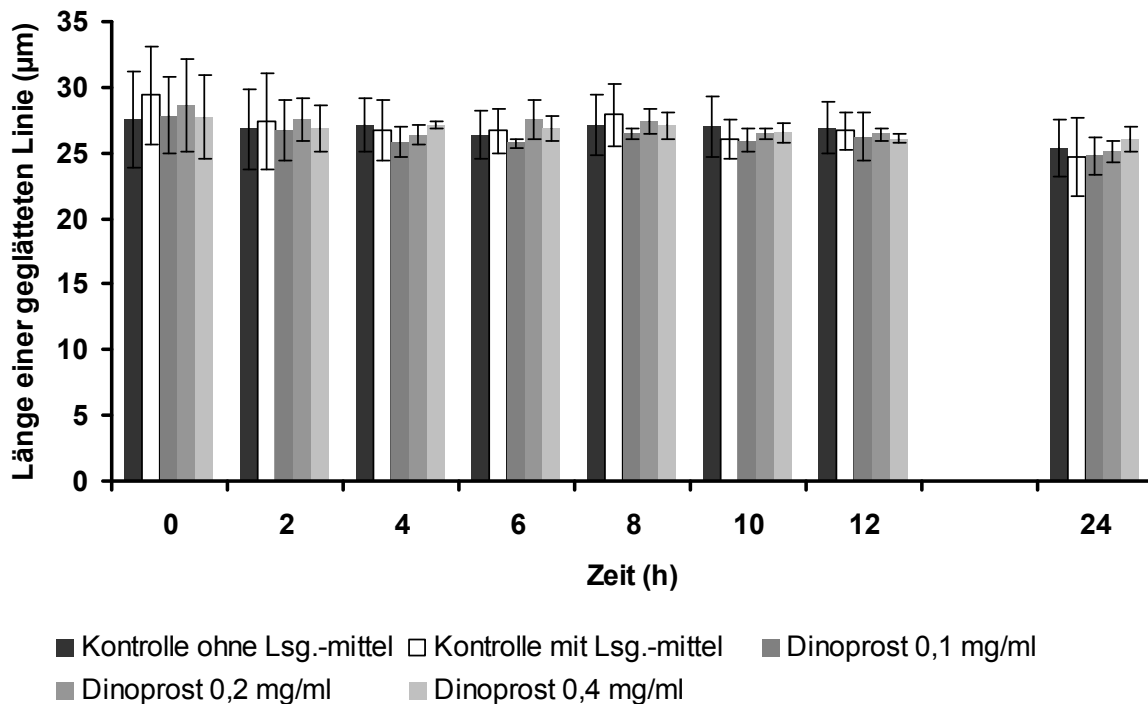


Abbildung 15: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Länge einer geglätteten Linie (µm) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei n = 9 Messwiederholungen)

Mit den drei Konzentrationen Cloprostenol-Racemat (Abbildung 16) konnte die Länge der geglätteten Linie ebenfalls nicht signifikant gesteigert werden. Die Mittelwerte der beiden Kontrollen sind bereits oben aufgeführt. Im Vergleich dazu ergaben sich mit dem Racemat keine statistisch signifikant unterschiedlichen Werte ( $p = 0,072$ ). Sie lagen nach dem Auftauen zwischen  $27,93 \pm 3,90 \mu\text{m}$  in der niedrigen und  $28,74 \pm 4,36 \mu\text{m}$  in der mittleren Konzentration. Lediglich der Faktor Zeit hatte einen statistisch signifikanten Einfluss ( $p = 0,011$ ) auf die Länge einer geglätteten Linie. Nach 24 Stunden Versuchsdauer legten die Spermien dann noch zwischen  $23,62 \pm 2,73 \mu\text{m}$  in der hohen und  $24,68 \pm 2,34 \mu\text{m}$  in der niedrigen Konzentration an Racemat auf der geglätteten Linie zurück. Signifikante Wechselwirkungen zwischen den beiden Faktoren Zeit und Konzentration gab es nicht ( $p = 0,072$ ).

Die dreifaktorielle Varianzanalyse erbrachte ebenfalls keinen signifikanten Einfluss der Racematkonzentrationen zu den Zeitpunkten 0 ( $p = 0,31$ ) und 2 ( $p = 0,31$ ).

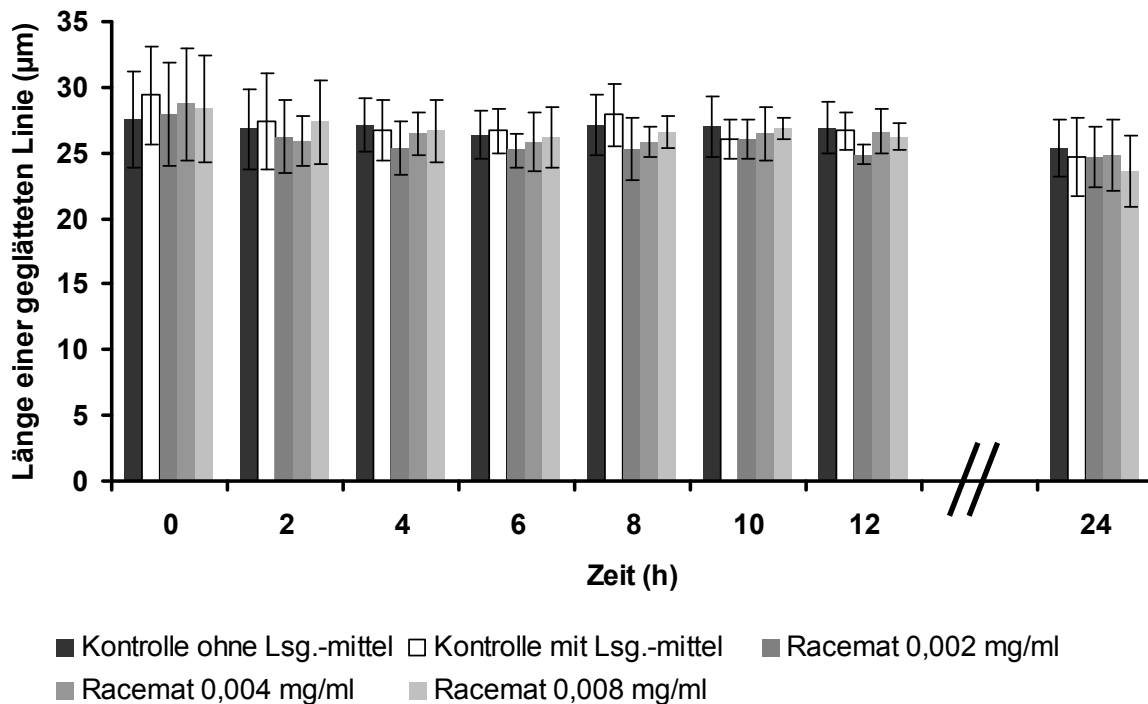


Abbildung 16: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Länge einer geglätteten Linie ( $\mu\text{m}$ ) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen)

Wie mit dem Racemat blieben auch die Wirkungen des Enantiomers des Cloprostenols auf die Länge des berechneten durchschnittlichen Bewegungsablaufes aus (Abbildung 17). Es wurde kein statistisch signifikanter Einfluss im Vergleich zu den Kontrollen nachgewiesen ( $p = 0,53$ ). Wechselwirkungen mit dem Faktor Zeit gab es ebenfalls keine ( $p = 0,11$ ). Der Faktor Zeit ( $p = 0,011$ ) hatte jedoch einen statistisch signifikanten Einfluss auf die Länge der geglätteten Linie. So fielen die Mittelwerte in allen drei Konzentrationen recht homogen in den ersten 12 Stunden um ca.  $2 \mu\text{m}$  und in den zweiten 12 Stunden vor der letzten Analyse auch um knapp  $2 \mu\text{m}$ .

Zu den Zeitpunkten 0 ( $p = 0,069$ ) und 2 ( $p = 0,22$ ) gab es in der dreifaktoriellen Varianzanalyse ebenfalls keinen signifikanten Effekt auf die Länge einer geglätteten Linie.

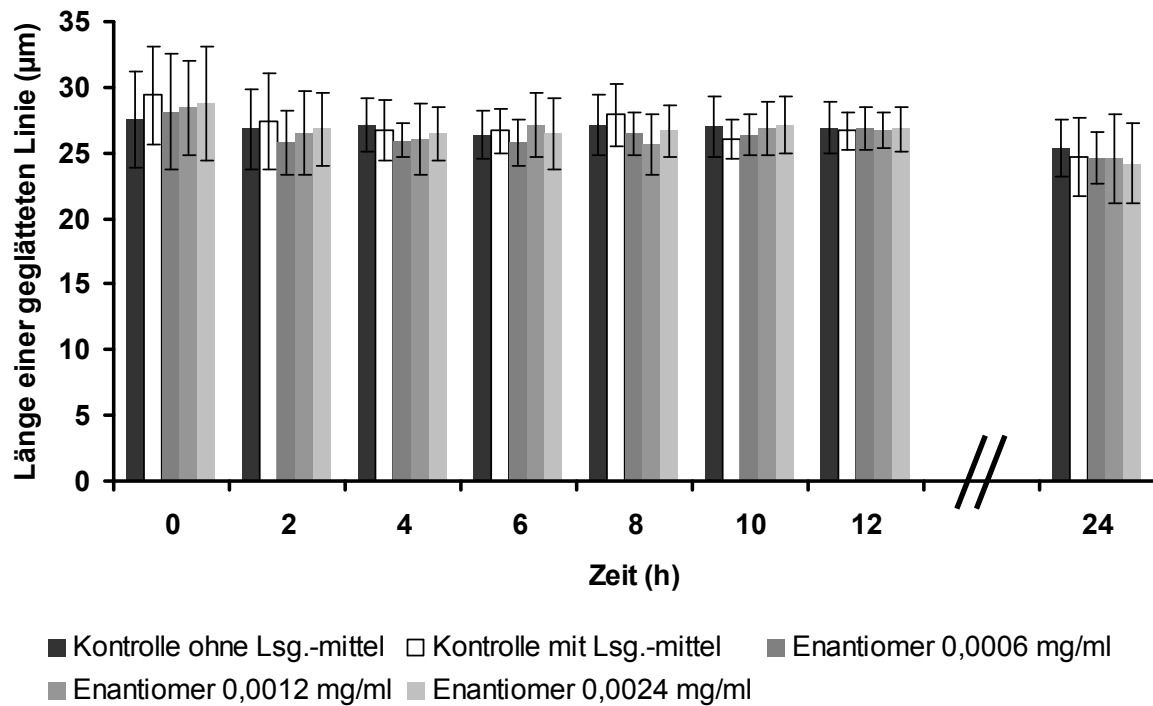


Abbildung 17: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Länge einer geglätteten Linie ( $\mu\text{m}$ ) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen)

#### 4.2.5 Strecke zwischen Start- und Endpunkt (DSL)

Die Strecken zwischen Start- und Endpunkt werden in den Abbildungen 18 bis 20 in derselben Weise wie die übrigen Motilitätsparameter dargestellt, immer ein Präparat zusammen mit den Kontrollen in jeweils einem Schaubild. Außerdem sind die Mittelwerte und die Standardabweichung in Tabelle 21 in Anhang 1 aufgeführt.

Die Mittelwerte lagen zu Beginn der Untersuchungen in den Kontrollen bei  $21,96 \pm 4,30 \mu\text{m}$  ohne und bei  $23,81 \pm 3,98 \mu\text{m}$  mit Lösungsmittel. Diese Strecken wurden im Laufe der Zeit ebenfalls kürzer. Nach 24 Stunden lagen die Mittelwerte noch bei  $18,17 \pm 1,86 \mu\text{m}$  bzw.  $18,99 \pm 1,91 \mu\text{m}$ .

Diesen Abfall konnte das natürliche Prostaglandins  $F_{2\alpha}$  nicht verlangsamen oder aufhalten (Abbildung 18). So zeigte die Varianzanalyse, dass nach Zugabe von Dinoprost sich kein statistisch signifikanter Unterschied zu den beiden Kontrollen ergeben hatte ( $p = 0,20$ ). Signifikante Wechselwirkungen mit dem Faktor Zeit blieben ebenfalls aus ( $p = 0,42$ ). Der Einfluss des Faktors Zeit war jedoch statistisch signifikant ( $p = 0,018$ ).

Die dreifaktorielle Varianzanalyse ergab einen signifikanten Einfluss der Konzentration zum Zeitpunkt 0 ( $p = 0,0080$ ). Nach dem SNK-Test unterschied sich die Kontrolle mit Zugabe von Lösungsmittel signifikant von den Werten der hohen und niedrigen Konzentration Dinoprost und zusätzlich von der Kontrolle ohne Lösungsmittelzugabe ( $p < 0,05$ ). Zwei Stunden danach war dieser Effekt nicht mehr vorhanden ( $p = 0,42$ ).

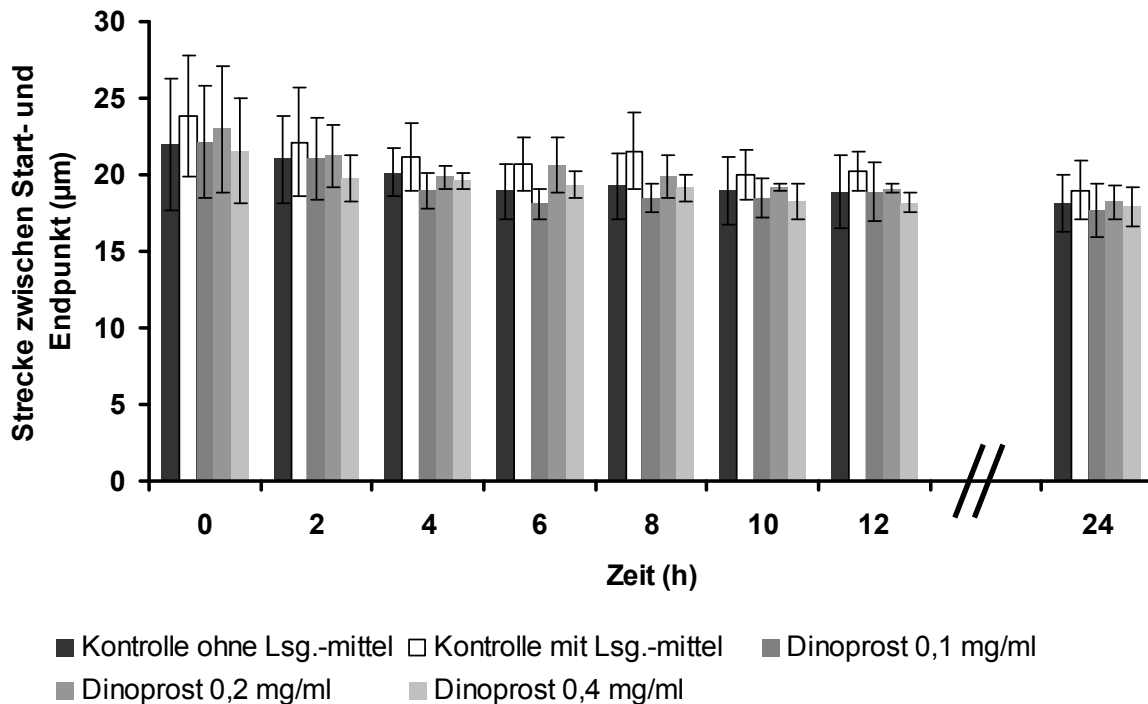


Abbildung 18: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Länge der Strecke zwischen Start- und Endpunkt ( $\mu\text{m}$ ) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen)

Im Gegensatz zum natürlichen Prostaglandin konnte mit dem Racemat des Cloprostenols (Abbildung 19) ein global statistisch signifikanter Einfluss auf die Länge der Strecke zwischen Start- und Endpunkt nachgewiesen werden ( $p = 0,0013$ ). Die Werte direkt nach Auftauen und Zugabe des Präparates lagen bei  $22,82 \pm 3,81 \mu\text{m}$  in der niedrigen, bei  $23,83 \pm 4,25 \mu\text{m}$  in der mittleren und bei  $23,32 \pm 4,06 \mu\text{m}$  in der hohen Konzentration des Racemates. Außerdem hatte der Faktor Zeit einen signifikanten Einfluss ( $p = 0,0019$ ). Nach 24 Stunden Versuchsdauer lagen die arithmetischen Mittelwerte immer noch über  $18 \mu\text{m}$ . Signifikante Wechselwirkungen zwischen dem Zeitpunkt und der Wirkstoffkonzentration konnten jedoch nicht nachgewiesen werden ( $p = 0,068$ ).

Nach der dreifaktoriellen hierarchischen Varianzanalyse für die Zeitpunkte 0 ( $p = 0,20$ ) und 2 ( $p = 0,11$ ) war der global bestehende signifikante Einfluss der Konzentrationen zu diesen Zeitpunkten noch nicht wirksam.

Die allgemeine Datenbeschreibung zeigt, dass die Werte in der niedrigen Konzentration auf dem Niveau der Werte der Kontrolle ohne Lösungsmittel blieben, vor allem im Zeitraum von 4 bis 12 Stunden nach dem Auftauen. Im selben Zeitraum ergaben sich mit der mittleren und hohen Konzentration und in der Kontrolle mit Lösungsmittelzugabe geringfügig größere Längen der Strecken zwischen Start- und Endpunkt. Nach 24 Stunden Lagerzeit war wiederum kein Unterschied mehr vorhanden.

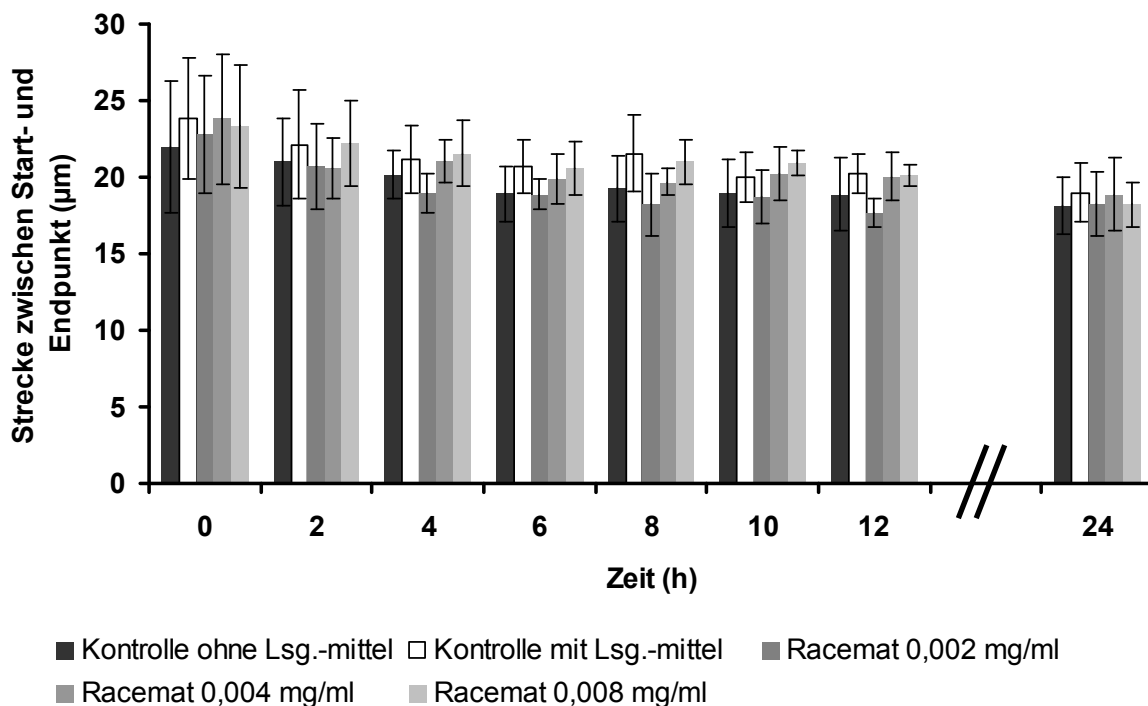


Abbildung 19: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Länge der Strecke zwischen Start- und Endpunkt ( $\mu\text{m}$ ) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen)

Die Streckenlängen zwischen Start- und Endpunkt entwickelten sich mit den drei zugegebenen Konzentrationen des Enantiomers (Abbildung 20) ähnlich denen des Racemats. Relativ kontinuierlich wurden diese im Laufe der Zeit kürzer. Es bestand ein signifikanter Einfluss des Faktors Zeit ( $p = 0,0037$ ) und außerdem unterschieden sich die Werte signifikant ( $p = 0,0003$ ). Signifikante Wechselwirkungen waren jedoch nicht vorhanden ( $p = 0,090$ ).

Nach der allgemeinen Datenbeschreibung hatte die Zugabe des Lösungsmittels eine Steigerung der DSL zur Folge. Während der gesamten Versuchsdauer war sie größer als in der Kontrolle ohne Lösungsmittel. Zum Zeitpunkt 0 war dieser Unterschied nicht signifikant ( $p = 0,064$ ). Zwei Stunden später dagegen unterschieden sich die Werte der Kontrolle mit Zugabe des Lösungsmittels von denen in der niedrigen und hohen Konzentration Enantiomer signifikant ( $p < 0,05$ ). Die Mittelwerte lagen nach Zugabe der mittleren und vor allem der hohen Konzentration im Zeitraum von 6 bis 12 Stunden nach dem Auftauen deutlich über der Kontrolle ohne Lösungsmittel, etwa auf dem Niveau der Werte der Kontrolle mit Lösungsmittelzugabe.

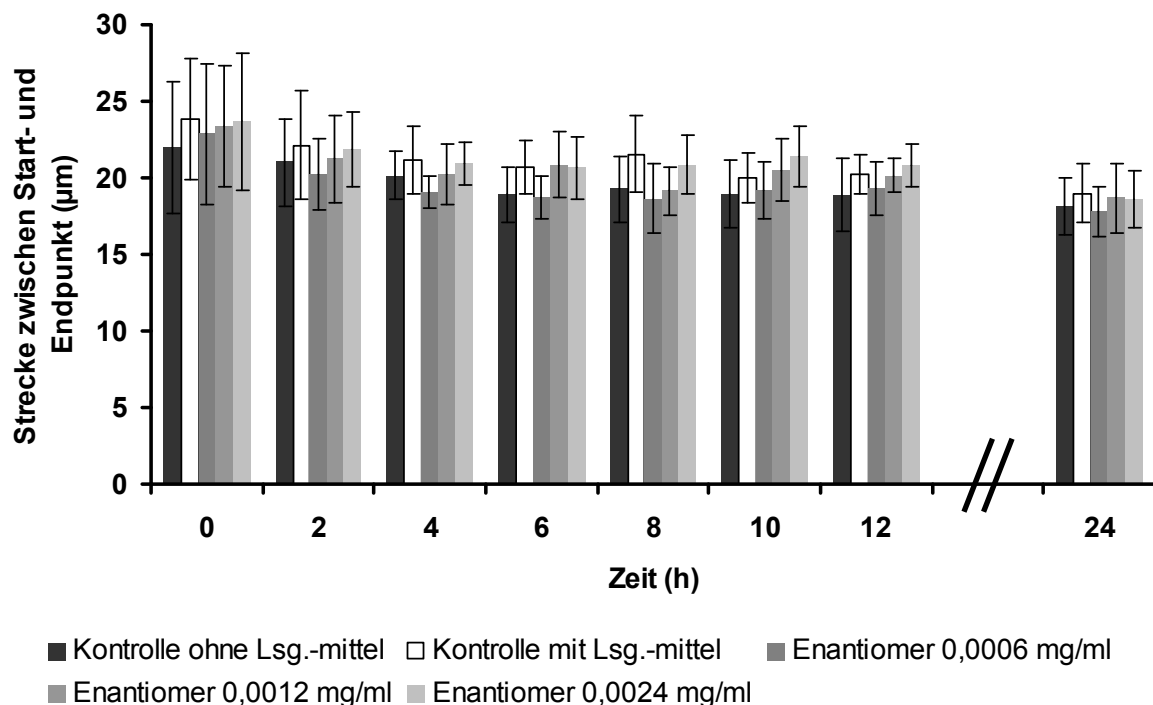


Abbildung 20: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Länge der Strecke zwischen Start- und Endpunkt ( $\mu\text{m}$ ) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen)



#### 4.2.6 Kurvilineare Geschwindigkeit (VCL)

Die Mittelwerte der Kurvilinearen Geschwindigkeit ( $\mu\text{m/s}$ ) und die Standardabweichung sind in Tabelle 22 im Anhang 1 aufgeführt. Die Abbildungen 21 bis 23 stellen im Folgenden die Verläufe der Mittelwerte und die Standardabweichung dar.

In der Kontrolle lagen die Kurvilinearen Geschwindigkeiten direkt nach dem Auftauen im Mittel bei  $115,25 \pm 14,83 \mu\text{m/s}$  ohne und mit Lösungsmittel etwas schneller bei  $126,28 \pm 19,29 \mu\text{m/s}$ . In der Kontrolle ohne Lösungsmittel stiegen die Werte im Laufe der Lagerungszeit etwas an, um dann hin zum letzten Analysezeitpunkt wieder auf die Ausgangsgeschwindigkeit zurückzukehren ( $116,77 \pm 16,11 \mu\text{m/s}$ ).

Mit Lösungsmittel stellte sich der Verlauf etwas anders da. Hier lag die Geschwindigkeit direkt nach dem Auftauen etwas höher, fiel dann ab, hatte bei der Analyse nach 8 Stunden noch einmal fast den Ausgangswert erreicht und fiel dann hin zur letzten Analyse wieder stärker ab, auf  $107,47 \pm 21,20 \mu\text{m/s}$ . Dies bestätigte der SNK-Test, nachdem die dreifaktorielle Varianzanalyse einen signifikanten Effekt zum Zeitpunkt 0 ergeben hatte ( $p = 0,033$ ). Der Unterschied zwischen den beiden Kontrollen war zum Zeitpunkt 0 ebenfalls statistisch signifikant ( $p < 0,05$ ). Zwei Stunden später war dieser Einfluss nicht mehr vorhanden ( $p = 0,19$ ).

Nach Zugabe des natürlichen  $\text{PGF}_{2\alpha}$  (Abbildung 21) waren die Entwicklungen der Mittelwerte der Kurvilinearen Geschwindigkeiten über die Zeit ähnlich. In allen drei zugefügten Konzentrationen erreichten die Werte nach 4 bis 8 Stunden Lagerzeit ein Maximum und fielen bis hin zur letzten Analyse unter die Ausgangswerte ab. Es bestand kein signifikanter Unterschied ( $p = 0,68$ ) und kein signifikanter Einfluss des Faktors Zeit ( $p = 0,054$ ) bei Zugabe von Dinoprost. Signifikante Wechselwirkungen zwischen den beiden Faktoren waren ebenfalls nicht vorhanden ( $p = 0,22$ ).

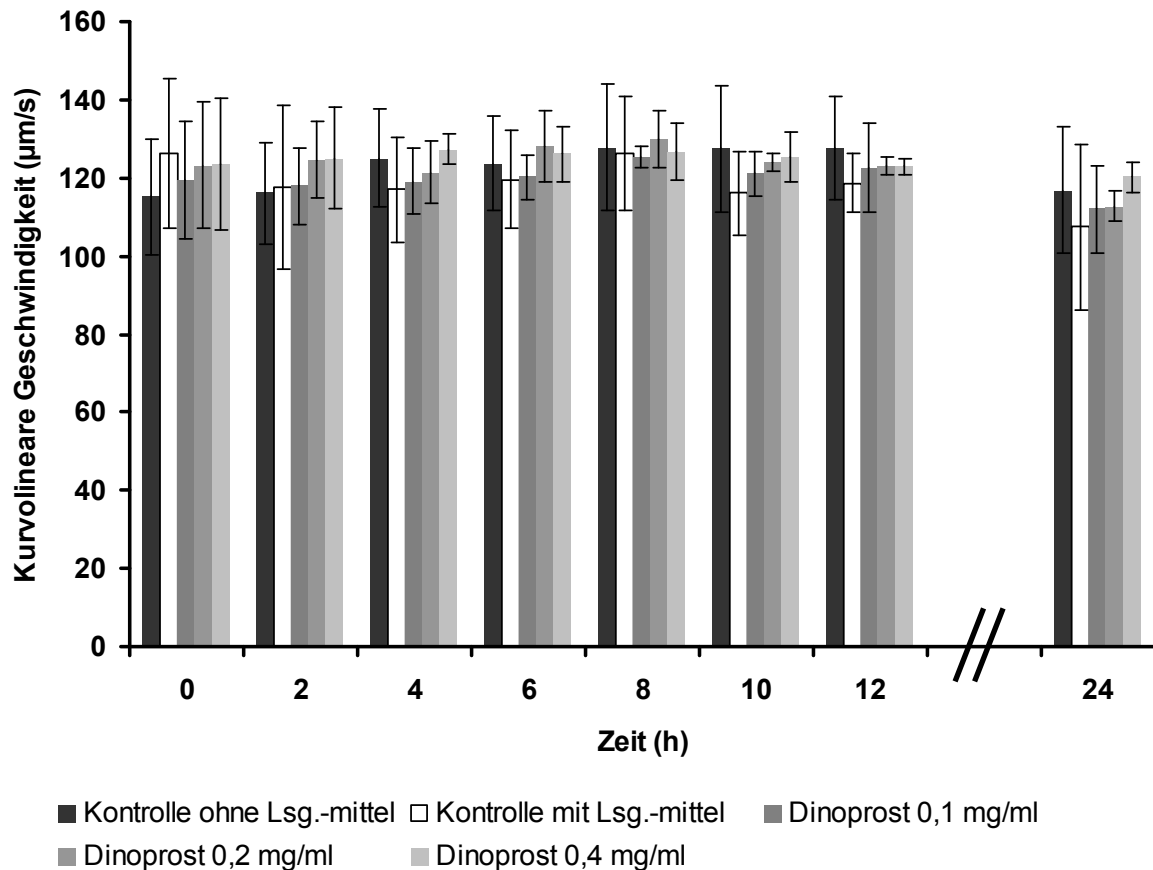


Abbildung 21: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Kurvilinearen Geschwindigkeiten ( $\mu\text{m/s}$ ) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen)

Nach Zugabe des synthetischen Prostaglandins Cloprostenol in Form des Racemats (Abbildung 22) waren die Unterschiede signifikant ( $p = 0,028$ ). Die Werte lagen zu Beginn bei  $114,59 \pm 20,91 \mu\text{m/s}$  in der niedrigen, bei  $118,46 \pm 23,18 \mu\text{m/s}$  in der mittleren und bei  $118,28 \pm 20,01 \mu\text{m/s}$  in der hohen Konzentration. Außerdem zeigte sich hier ein Maximum bei den Analysen nach 10 bzw. 12 Stunden und anschließend fielen die Kurvilinearen Geschwindigkeiten hin zur letzten Analyse wieder stark ab. Der Einfluss des Faktors Zeit war signifikant ( $p = 0,037$ ). Es traten ebenfalls signifikante Wechselwirkungen zwischen den beiden Faktoren Zeit und Konzentration auf ( $p = 0,011$ ).

In der dreifaktoriellen Varianzanalyse konnte zu den Zeitpunkten 0 ( $p = 0,14$ ) und 2 ( $p = 0,52$ ) dieser Einfluss nicht nachgewiesen werden. Der allgemeinen

Datenbeschreibung zufolge fielen die Kurvlinearen Geschwindigkeiten erst nach 4 Stunden Lagerzeit deutlicher ab als die Werte der Kontrolle ohne Lösungsmittel. Mit Zugabe des Lösungsmittels waren die Mittelwerte ab diesem Zeitpunkt ebenfalls stets kleiner.

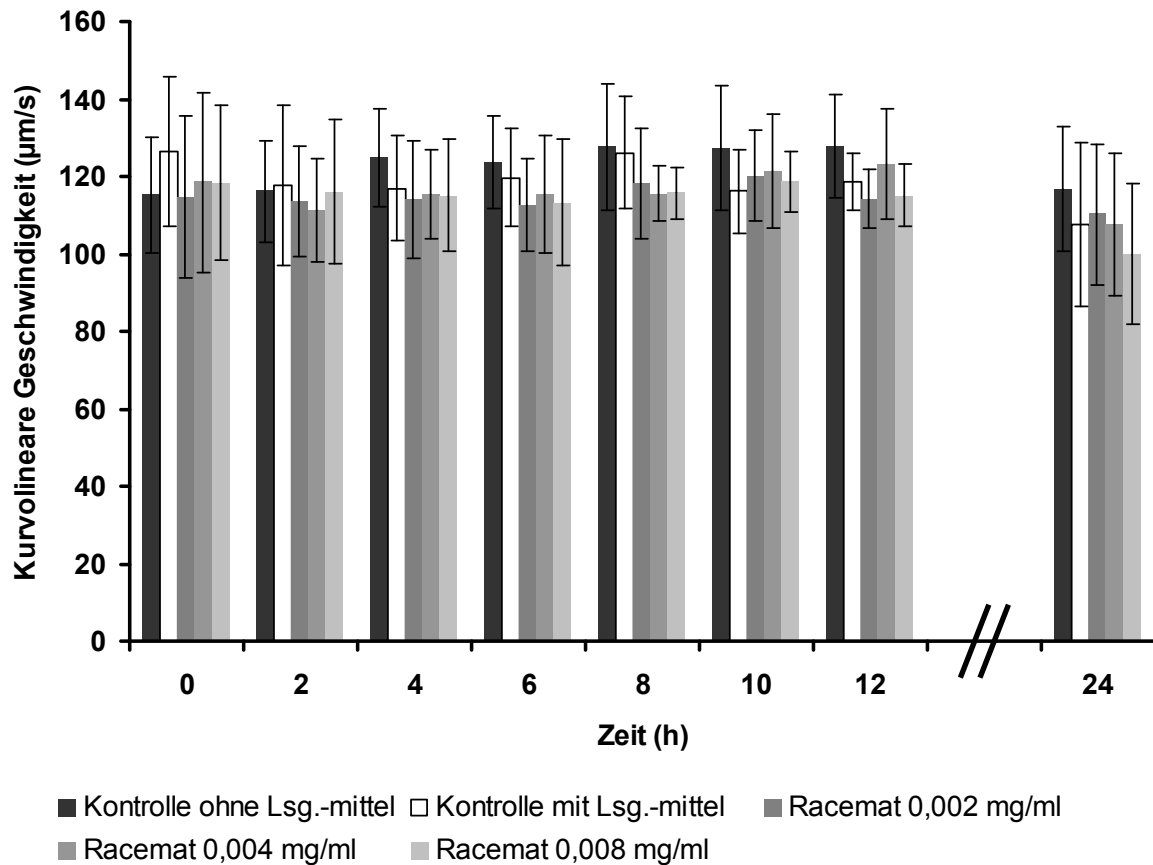


Abbildung 22: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Kurvlinearen Geschwindigkeiten ( $\mu\text{m/s}$ ) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen)

Die Zugabe des dritten Präparates mit dem Enantiomer des Cloprostenols als Wirkstoff (Abbildung 23) erbrachte keine statistisch signifikante Wirkung ( $p = 0,19$ ). Dies bleibt jedoch ohne Bedeutung, da signifikante Wechselwirkungen zwischen den Faktoren Zeit und Konzentration bestanden ( $p = 0,023$ ). Der Effekt des Faktors Zeit war ebenfalls statistisch signifikant ( $p = 0,015$ ).

Die Mittelwerte direkt nach dem Auftauen lagen bei  $116,89 \pm 19,84 \mu\text{m/s}$  in der niedrigen, bei  $118,04 \pm 18,06 \mu\text{m/s}$  in der mittleren und bei  $119,53 \pm 20,71 \mu\text{m/s}$  in

der hohen Konzentration. Die dreifaktorielle Varianzanalyse ergab zu diesem Zeitpunkt einen signifikanten Effekt ( $p = 0,017$ ). Nach dem SNK-Test unterschied sich die Kontrolle mit Zugabe des Lösungsmittels zu diesem Zeitpunkt signifikant von den anderen vier Mittelwerten ( $p < 0,05$ ). Zwei Stunden später war kein signifikanter Einfluss mehr vorhanden ( $p = 0,36$ ).

Während der ersten Hälfte der Versuchsdauer kam es der allgemeinen Datenbeschreibung zufolge zu einem Anstieg der mittleren Kurvilinearen Geschwindigkeiten. In der zweiten Hälfte fielen die Werte unter die Ausgangswerte ab. Insgesamt waren die Werte nach Zugabe des Enantiomers stets kleiner als die der Kontrolle ohne Lösungsmittel. Der größte Unterschied bestand ab dem dritten Analysezeitpunkt meist in der hohen Konzentration. Der Wert der Kontrolle mit Lösungsmittel lag nach 4 Stunden Lagerzeit ebenfalls unter dem der Kontrolle ohne Lösungsmittel.

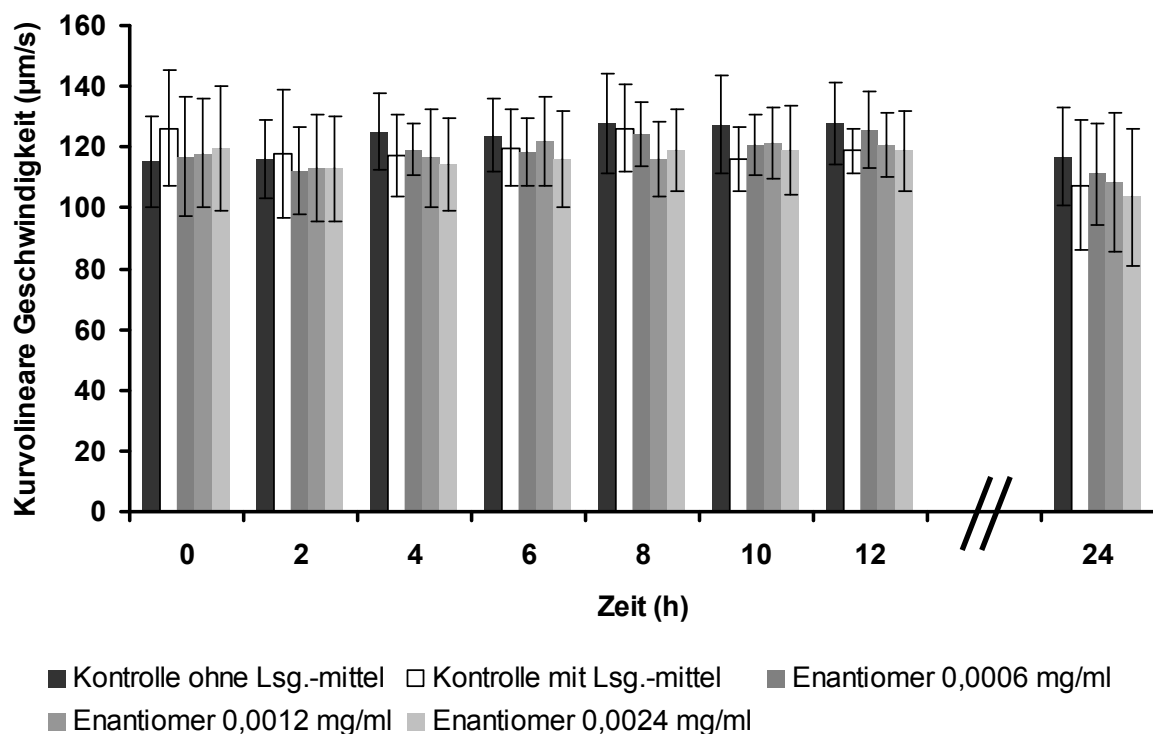


Abbildung 23: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Kurvilinearen Geschwindigkeiten ( $\mu\text{m/s}$ ) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen)

#### 4.2.7 Mittlere Geschwindigkeit (VAP)

Die arithmetischen Mittelwerte der Mittleren Geschwindigkeit ( $\mu\text{m/s}$ ) sind zusammen mit der Standardabweichung in Tabelle 23 in Anhang 1 aufgeführt. Die Abbildungen 24 bis 26 stellen den Verlauf über die Zeit in Form eines Balkendiagramms für jedes Präparat in Kombination mit den arithmetischen Mittelwerten der Kontrollen dar.

Nach Zugabe des natürlichen Prostaglandins (Abbildung 24) konnte weder ein signifikanter Einfluss des Faktors Zeit ( $p = 0,085$ ) noch ein Einfluss der Konzentrationen nachgewiesen werden ( $p = 0,91$ ). Signifikante Wechselwirkungen zwischen den beiden Faktoren gab es ebenfalls keine ( $p = 0,33$ ).

Entsprechend bietet das Balkendiagramm ein relativ einheitliches Bild. Zu Beginn lagen die Mittelwerte in den Kontrollen und mit Dinoprost zwischen 63 und 68  $\mu\text{m/s}$ , verzeichneten hin zur Analyse nach 2 Stunden einen kleinen Rückschritt um dieses Niveau die ersten 12 Stunden annähernd konstant zu halten. Erst bei der letzten Analyse nach 24 Stunden waren die mittleren Geschwindigkeiten noch einmal auf Werte zwischen 56 und 60  $\mu\text{m/s}$  gefallen.

Im SNK-Test stellte sich heraus, dass direkt nach dem Auftauen der Unterschied zwischen der Kontrolle mit Lösungsmittel und der Kontrolle ohne Lösungsmittel statistisch signifikant war ( $p < 0,05$ ), genauso wie der Unterschied zu den Mittelwerten der niedrigen und hohen Konzentration an Dinoprost. Zwei Stunden später war kein signifikanter Einfluss der Konzentrationen mehr vorhanden ( $p = 0,91$ ).

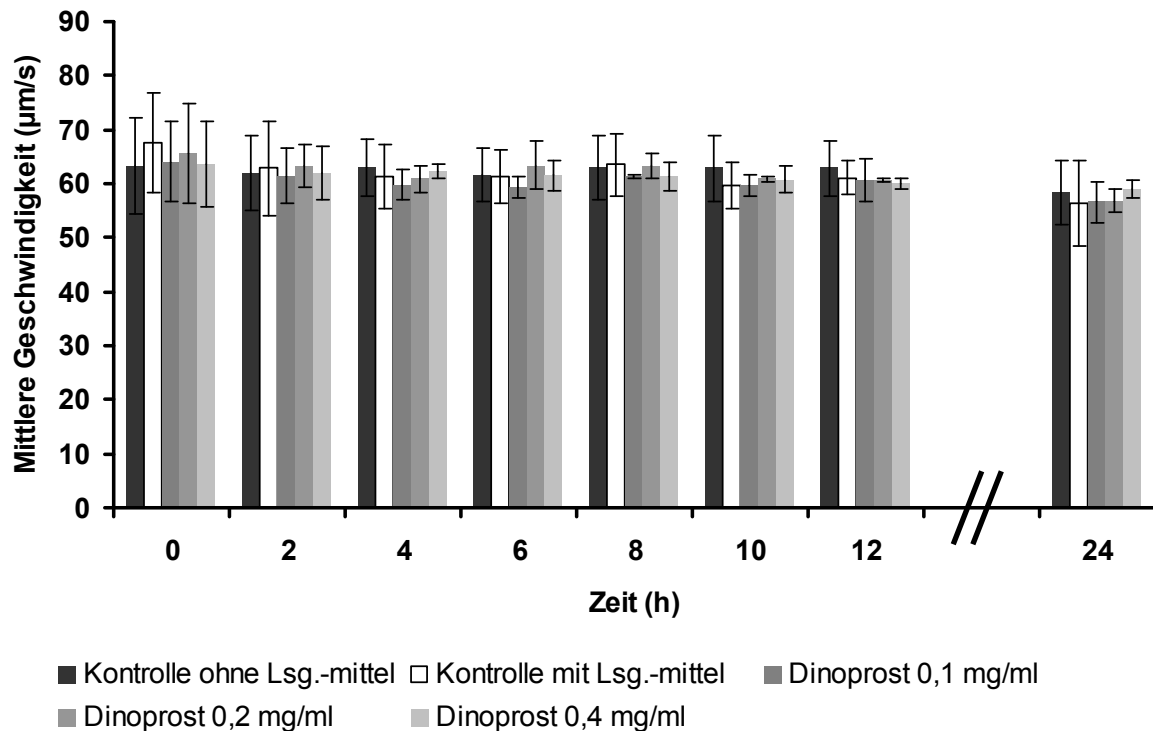


Abbildung 24: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Mittleren Geschwindigkeiten ( $\mu\text{m/s}$ ) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen)

Auch nach Zugabe der synthetischen Präparate zeigten sich keine statistisch signifikanten Unterschiede zu den Kontrollen. Mit dem Racemat (Abbildung 25,  $p = 0,064$ ) und dem Enantiomer (Abbildung 26,  $p = 0,53$ ) zeichneten sich sehr ähnliche Mittelwerte und Verläufe über die Zeit ab. Lediglich in den jeweils hohen Konzentrationen waren die Werte mit  $53,49 \pm 7,57 \mu\text{m/s}$  im Racemat und mit  $55,04 \pm 7,94 \mu\text{m/s}$  im Enantiomer bei der Analyse nach 24 Stunden noch niedriger als mit Dinoprost und den Kontrollen. Signifikante Wechselwirkungen zwischen den Faktoren Zeit und Konzentration gab es weder nach Racemat- ( $p = 0,054$ ) noch nach Enantiomerzugabe ( $p = 0,10$ ).

Der Faktor Zeit hatte nach Zugabe beider synthetischer Präparate einen signifikanten Einfluss. Mit  $p = 0,0089$  bei Racemat- und  $p = 0,0096$  bei Enantiomerzugabe reduzierten sich die Mittleren Geschwindigkeiten im Verlauf der Zeit deutlich.

Die dreifaktorielle Varianzanalyse zu den ersten beiden Messzeitpunkten konnte bei keinem der beiden synthetischen Cloprostenolpräparate einen signifikanten Einfluss feststellen.

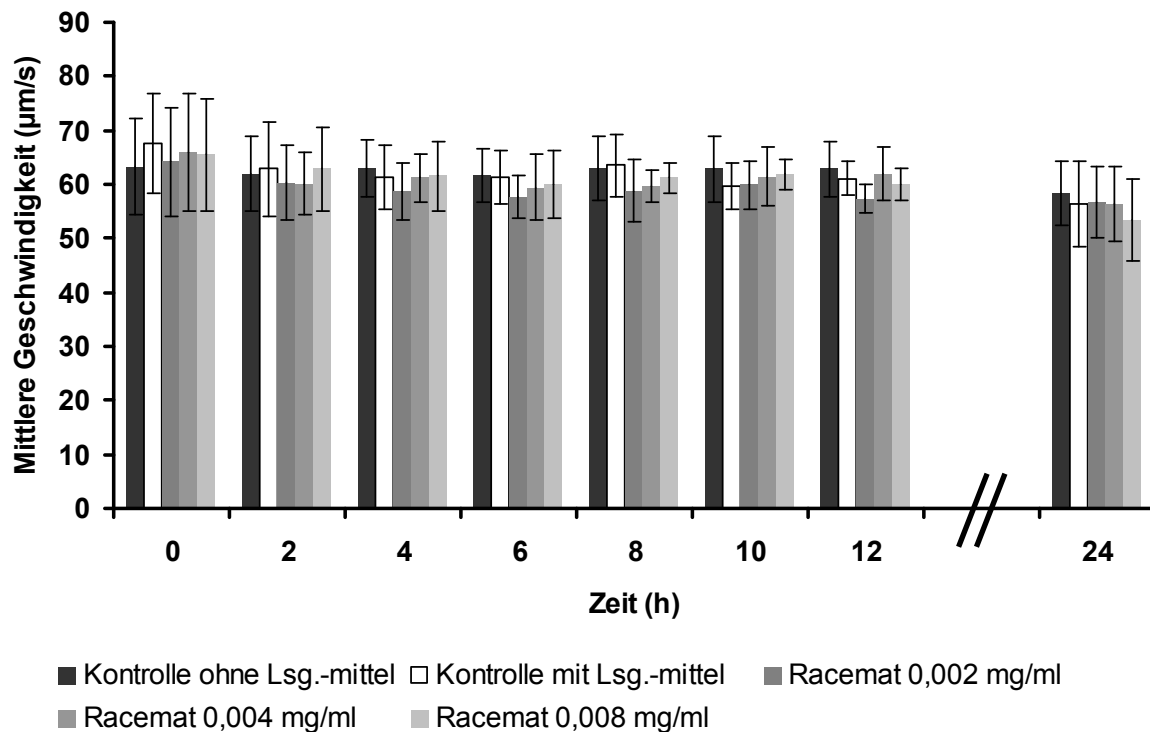


Abbildung 25: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Mittleren Geschwindigkeiten ( $\mu\text{m/s}$ ) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen)

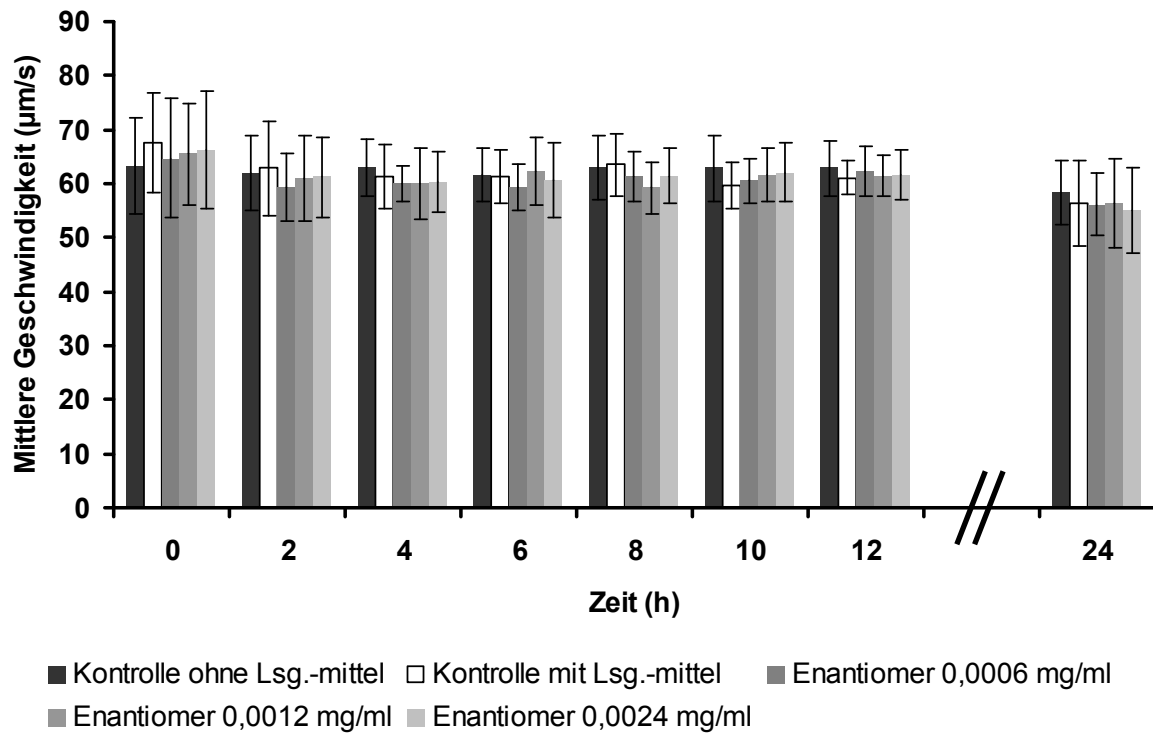


Abbildung 26: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Mittleren Geschwindigkeiten ( $\mu\text{m/s}$ ) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen)



#### 4.2.8 Lineare Geschwindigkeit (VSL)

Die Linearen Geschwindigkeiten aus Versuch 1 entlang der Strecke zwischen Start- und Endpunkt sind in Form der arithmetischen Mittelwerte und deren Standardabweichung in Tabelle 24 in Anhang 1 aufgeführt. Nachfolgend sind in den Abbildungen 27 bis 29 diese Werte als Balkendiagramme dargestellt.

Die Kontrolle ohne Lösungsmittel zeigte direkt nach dem Auftauen eine mittlere Lineare Geschwindigkeit von  $50,58 \pm 9,99 \mu\text{m/s}$ , fiel danach kontinuierlich auf  $44,32 \pm 5,06 \mu\text{m/s}$  nach 6 Stunden, hielt dieses Niveau für weitere 6 Stunden und reduzierte die Lineare Geschwindigkeit im letzten Intervall. Nach 24 Stunden Versuchsdauer zeigte die Kontrolle ohne Lösungsmittel noch eine mittlere Lineare Geschwindigkeit von  $41,80 \pm 5,18 \mu\text{m/s}$ .

Die Kontrolle mit Lösungsmittel zeigte zu jedem Analysezeitpunkt eine höhere mittlere Lineare Geschwindigkeit. So lag sie zum Zeitpunkt 0 bei  $54,75 \pm 9,60 \mu\text{m/s}$ , nach 6 Stunden bei  $47,66 \pm 4,81 \mu\text{m/s}$ , nach 12 Stunden bei  $46,38 \pm 2,99 \mu\text{m/s}$  und zum Ende der Analysenzeit nach 24 Stunden bei  $43,34 \pm 5,37 \mu\text{m/s}$ .

Die Entwicklung der Linearen Geschwindigkeiten ( $\mu\text{m/s}$ ) über die Zeit mit Zugabe dreier Konzentrationen Dinoprost (Abbildung 27) wies keinen statistisch signifikanten Unterschied auf ( $p = 0,26$ ). Der Faktor Zeit hatte jedoch einen signifikanten Einfluss ( $p = 0,015$ ). Signifikante Wechselwirkungen zwischen den Wirkstoffkonzentrationen und dem Analysezeitpunkt gab es keine ( $p = 0,62$ ).

Mit der dreifaktoriellen hierarchischen Varianzanalyse konnte jedoch zum Zeitpunkt 0 ein Effekt der eingesetzten Konzentrationen nachgewiesen werden ( $p = 0,0080$ ). So unterschied sich im SNK-Test der Mittelwert in der Kontrolle mit Lösungsmittel signifikant von den Werten der Kontrolle ohne Lösungsmittel und von den Werten in der niedrigen und hohen Konzentration Dinoprost. Diese statistische Signifikanz war jedoch nach 2 Stunden Lagerzeit nicht mehr gegeben ( $p = 0,41$ ).

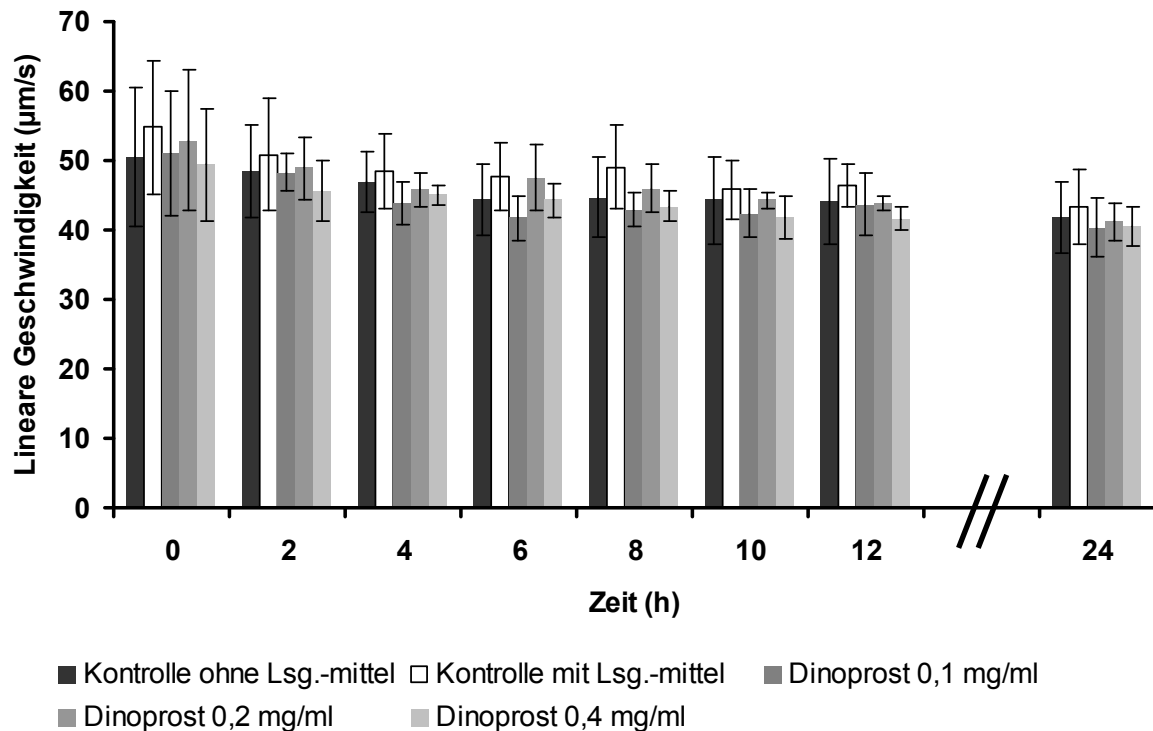


Abbildung 27: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Linearen Geschwindigkeiten ( $\mu\text{m/s}$ ) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen)

Die Zugabe der drei Konzentrationen des synthetischen Cloprostenol-Racemates übte einen global statistisch signifikanten Effekt auf die Lineare Geschwindigkeiten aus ( $p = 0,0022$ ). Dieser trat ab einer Lagerzeit von 4 Stunden ein, denn die dreifaktorielle Varianzanalyse zu den ersten beiden Messzeitpunkten 0 ( $p = 0,23$ ) und 2 ( $p = 0,081$ ) ergab keinen signifikanten Unterschied.

Der allgemeinen Datenbeschreibung zufolge reduzierte sich die Lineare Geschwindigkeit in der niedrigen Konzentration im Zeitraum von 4 bis 12 Stunden Lagerzeit etwas im Vergleich zur Kontrolle ohne Lösungsmittel. Währenddessen lagen die Werte in der mittleren und vor allem der hohen Konzentration Racemat im selben Zeitfenster immer etwas über denen der Kontrolle ohne Lösungsmittel. Nach 24 Stunden Lagerzeit war jedoch kaum mehr ein Unterschied vorhanden.

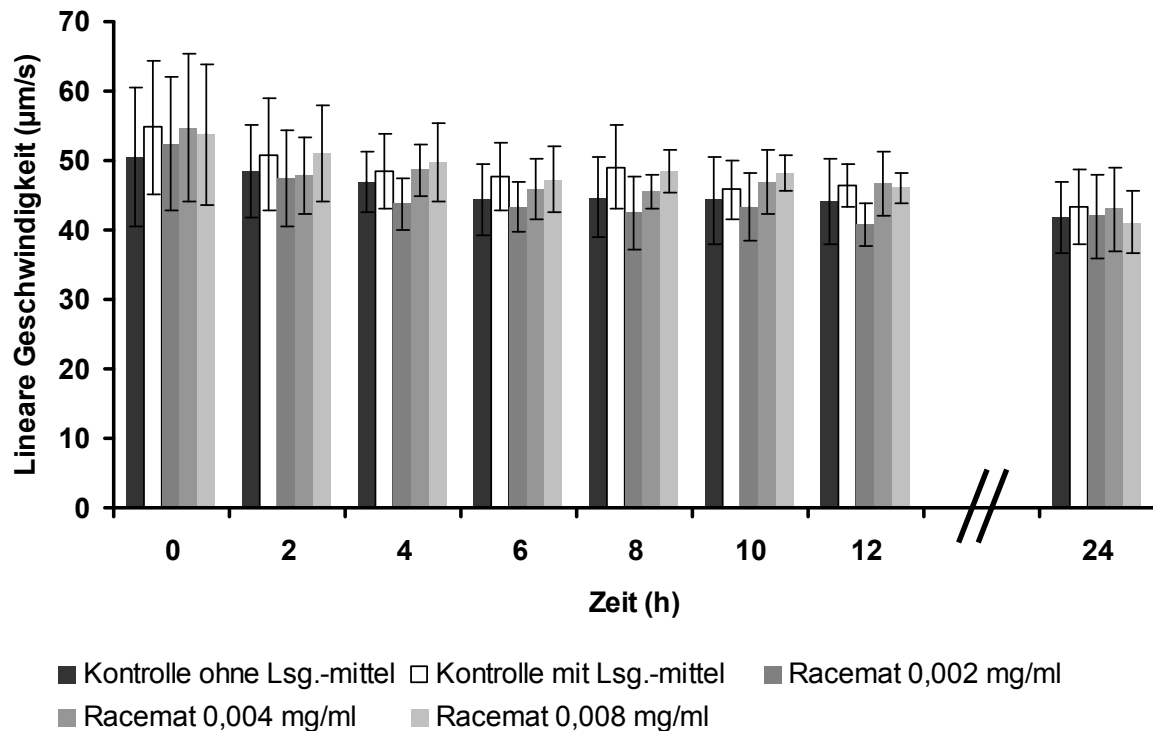


Abbildung 28: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Linearen Geschwindigkeiten ( $\mu\text{m/s}$ ) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenoil-Racemate zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen)

Ähnlich der Racematzugabe konnte auch das Enantiomer die Linearen Geschwindigkeiten der Bullenspermien steigern. Der Effekt der eingesetzten Konzentrationen war statistisch hoch signifikant ( $p = 0,0007$ ). Die dreifaktorielle Varianzanalyse zeigte jedoch, dass zum Zeitpunkt 0 noch kein Effekt vorhanden war ( $p = 0,081$ ). Zwei Stunden später war dagegen ein Konzentrationseffekt vorhanden ( $p = 0,024$ ), so dass sich die Werte der Kontrolle mit Lösungsmittel von der niedrigen Konzentration Enantiomer signifikant unterschieden ( $p < 0,05$ ).

Die allgemeine Datenbeschreibung zeigt, dass vor allem in der hohen Konzentration Enantiomer die Linearen Geschwindigkeiten im Zeitraum von 6 bis 12 Stunden Lagerzeit im Vergleich zur Kontrolle ohne Lösungsmittel gesteigert werden konnten.

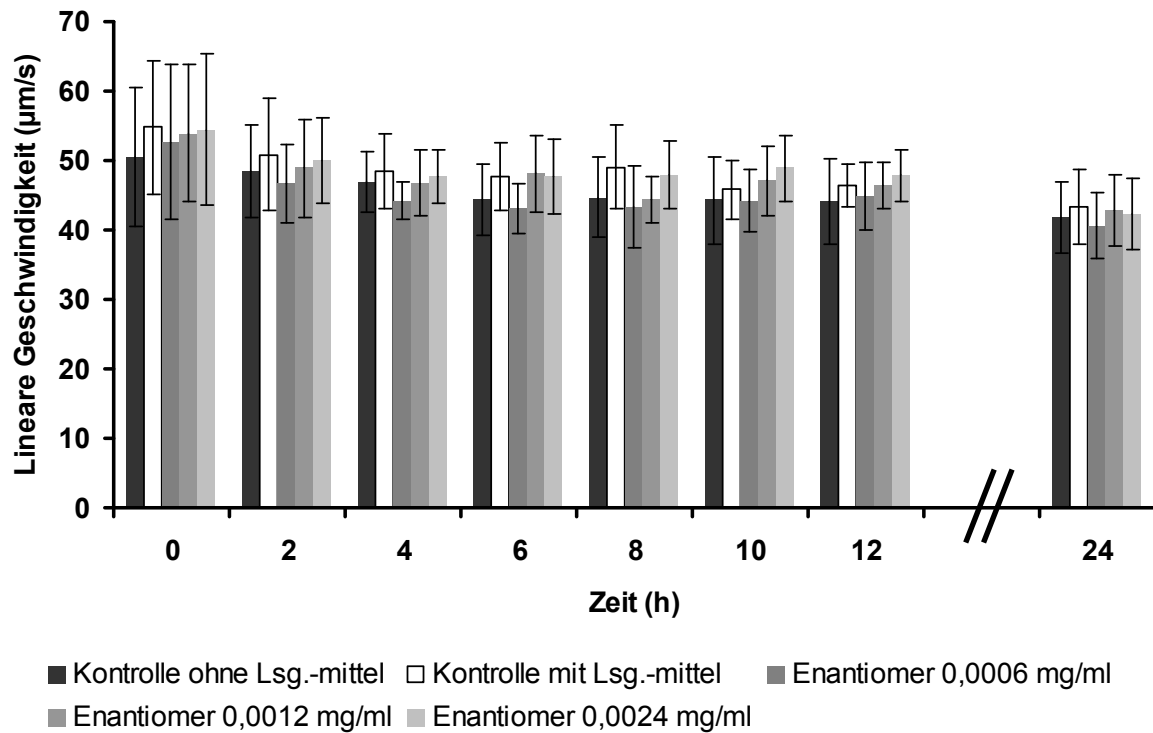


Abbildung 29: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Linearen Geschwindigkeiten ( $\mu\text{m/s}$ ) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenoil-Enantiomer zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen)

#### 4.2.9 Linearität der Spermienbewegung (LIN)

Die Linearität der Spermienbewegung (Tabelle 25, Anhang 1) entwickelte sich in der Kontrolle so, dass die Werte über den langen Zeitraum von 24 Stunden nur wenig abnahmen. Zum Zeitpunkt 0 lagen sie im Mittel bei  $0,43 \pm 0,05$  ohne und bei  $0,43 \pm 0,03$  mit Lösungsmittel. Nach 12 Stunden lag die Linearität in der Kontrolle noch bei  $0,34 \pm 0,03$  bzw.  $0,38 \pm 0,01$ . Hin zur letzten Analyse legten die Mittelwerte dann wieder etwas zu. Sie lagen bei  $0,36 \pm 0,03$  in der Kontrolle ohne und bei  $0,40 \pm 0,04$  mit Lösungsmittel. Die Werte sind in den Abbildungen 30 bis 32 mit der Standardabweichung in einem Balkendiagramm dargestellt, zusammen mit den Mittelwerten nach Zugabe dreier Konzentrationen jeweils eines Prostaglandinpräparates.

So konnte mit Zugabe von Dinoprost (Abbildung 30) in der vierfaktoriellen Varianzanalyse nachgewiesen werden, dass ein statistisch signifikanter Unterschied der Linearität nach Dinoprostzugabe bestand ( $p = 0,0003$ ). Die Werte mit Dinoprost waren zu jedem Analysezeitpunkt kleiner als bzw. genau so groß wie in der Kontrolle. Abbildung 30 stellt die Mittelwerte und Standardabweichung für jede Konzentration dar. Hieraus wird ersichtlich, dass bereits ab dem zweiten Messzeitpunkt die Kontrolle mit Lösungsmittel höhere Mittelwerte aufwies als die Kontrolle ohne und als die drei verschiedenen Wirkstoffkonzentrationen.

Der Faktor Zeit hatte einen statistisch signifikanten Einfluss ( $p = 0,0023$ ) und signifikante Wechselwirkungen mit dem Faktor Konzentration gab es ebenfalls ( $p = 0,0041$ ). Zusätzlich ergab die dreifaktorielle hierarchische Varianzanalyse einen signifikanten Effekt zum Zeitpunkt 0 ( $p = 0,046$ ) und 2 ( $p = 0,016$ ). Der SNK-Test zeigte, dass sich direkt nach dem Auftauen nur die Mittelwerte der hohen Konzentration und der Kontrolle ohne Lösungsmittel signifikant unterschieden ( $p < 0,05$ ). Zwei Stunden später gab es signifikante Unterschiede zwischen der hohen Konzentration und der niedrigen und den beiden Kontrollen ( $p < 0,05$ ).

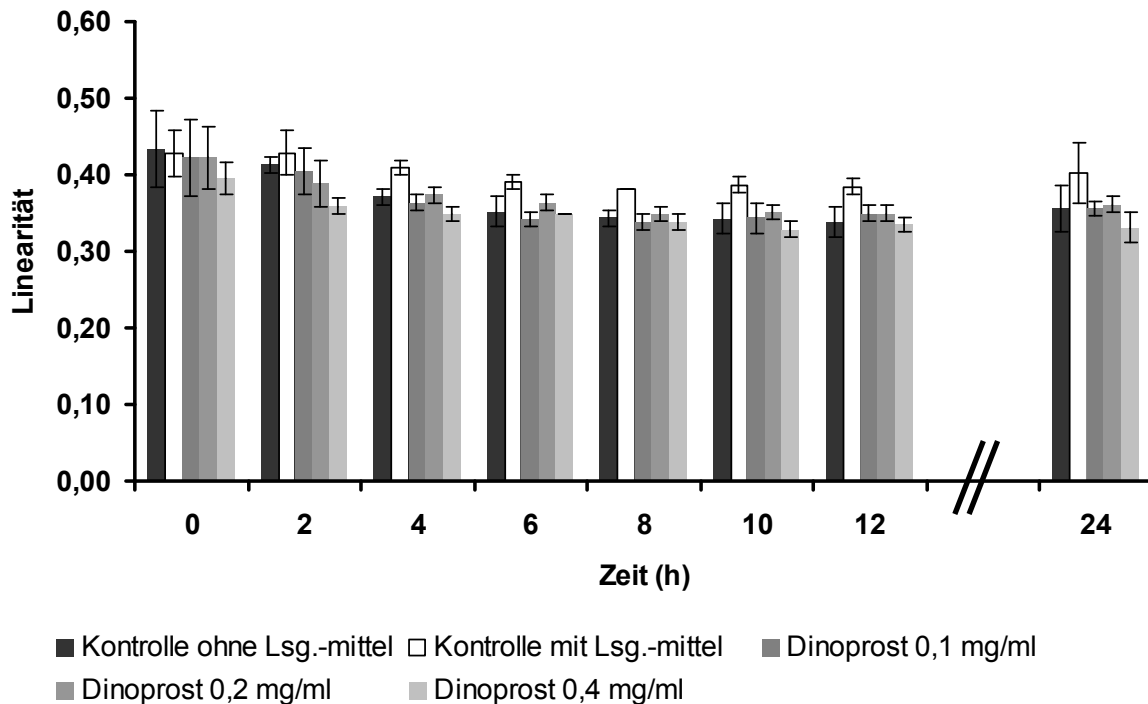


Abbildung 30: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Linearität der Spermienbewegung in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen)

Auch nach Zugabe des Cloprostenol-Racemats (Abbildung 31) ergaben sich statistisch signifikante Unterschiede beim Vergleich der Mittelwerte mit den Kontrollen ( $p = 0,0007$ ). Sie lagen zum Zeitpunkt 0 etwas höher, und zwar bei  $0,45 \pm 0,04$  in der niedrigen, bei  $0,46 \pm 0,04$  in der mittleren und bei  $0,45 \pm 0,03$  in der hohen Konzentration Racemat. Diese fielen dann in den ersten 12 Stunden ebenfalls leicht ab, um anschließend bis zum letzten Analysezeitpunkt wieder etwas anzusteigen. Der Faktor Zeit hatte somit einen signifikanten Einfluss ( $p = 0,0041$ ). Statistisch signifikante Wechselwirkungen zwischen den beiden Faktoren Zeit und Konzentration gab es ebenfalls ( $p < 0,0001$ ).

Die dreifaktorielle hierarchische Varianzanalyse ergab einen signifikanten Konzentrationseinfluss zum Zeitpunkt 0 ( $p = 0,012$ ). Außerdem zeigte der SNK-Test, dass zum Zeitpunkt 0 sich die Mittelwerte in allen drei Racematkonzentrationen signifikant von beiden Kontrollen unterschieden ( $p < 0,05$ ). Dieser Unterschied war zum Zeitpunkt 2 nicht mehr vorhanden ( $p = 0,25$ ).

In der allgemeinen Datenbeschreibung fällt auf, dass die Kontrolle mit Zugabe des Lösungsmittels ab 2 Stunden Lagerzeit stets höhere Linearitäten zeigte als die Kontrolle ohne Lösungsmittel. Außerdem kommt hinzu, dass spätestens 4 Stunden nach dem Auftauen die Spermienbewegungen in der mittleren und hohen Racematkonzentration höhere Linearitäten aufwiesen als die der Kontrolle ohne Lösungsmittel.

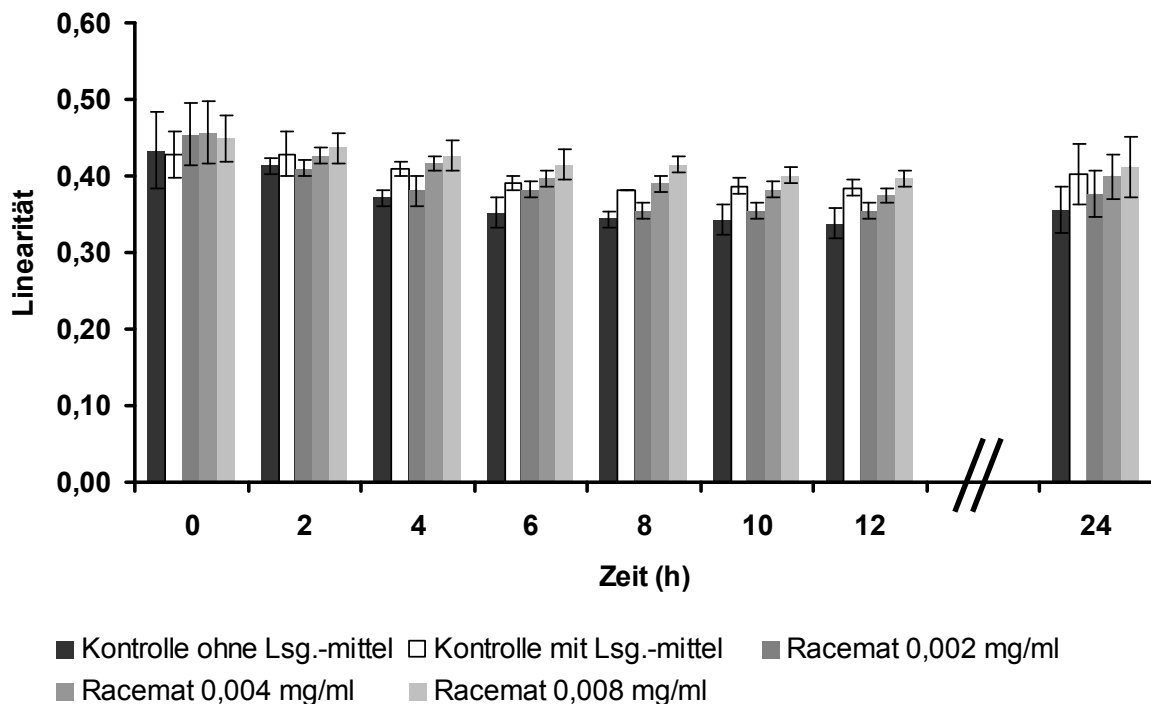


Abbildung 31: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Linearität der Spermienbewegung in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen)

Die Linearität mit Zugabe des Enantiomers von Cloprostenol (Abbildung 32) entwickelte sich im Versuchszeitraum ähnlich den bereits beschriebenen mit dem Racemat. Erneut waren statistisch signifikante Unterschiede nachweisbar ( $p = 0,0019$ ) und der Faktor Zeit hatte einen signifikanten Effekt ( $p = 0,0056$ ). Signifikante Wechselwirkungen zwischen den beiden Faktoren kommen außerdem hinzu ( $p = 0,0004$ ).

Die dreifaktorielle hierarchische Varianzanalyse zeigt jedoch, dass die beschriebenen Effekte zu den ersten beiden Zeitpunkten 0 ( $p = 0,11$ ) und 2 ( $p = 0,057$ ) noch nicht

aufgetreten waren. Aus der allgemeinen Datenbeschreibung lässt sich entnehmen, dass die Steigerung der Linearität mit dem Enantiomer vor allem in der mittleren und hohen Konzentration ab 4 Stunden Lagerzeit stattgefunden hatte.

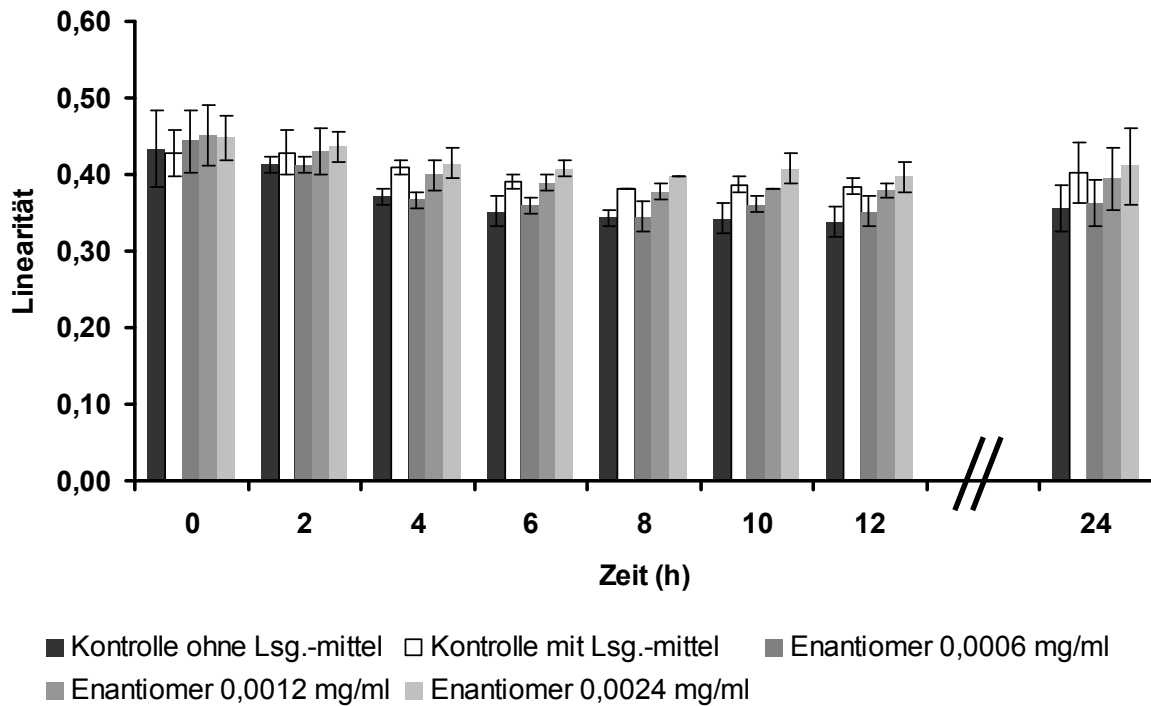


Abbildung 32: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Linearität der Spermienbewegung in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen)



#### 4.2.10 Geradlinigkeit des durchschnittlichen Bewegungsablaufes (STR)

Die Mittelwerte der Geradlinigkeit des durchschnittlichen Bewegungsablaufes sind zusammen mit der Standardabweichung in Tabelle 26 in Anhang 1 aufgeführt. Außerdem werden die Ergebnisse in den Abbildungen 33 bis 35 dargestellt.

Die Mittelwerte der Kontrollen lagen nach dem Auftauen bei  $0,79 \pm 0,05$  ohne und bei  $0,80 \pm 0,04$  mit Lösungsmittel. Sie fielen über die gesamte Versuchsdauer nur geringgradig ab, so dass die Geradlinigkeit des durchschnittlichen Bewegungsablaufes nach 24 Stunden immer noch  $0,71 \pm 0,04$  bzw.  $0,76 \pm 0,03$  in den Kontrollen betrug.

Nach Zugabe von Dinoprost (Abbildung 33) fiel die Geradlinigkeit schneller ab. Die Unterschiede waren statistisch signifikant ( $p = 0,0056$ ) und der Faktor Zeit hatte ebenfalls einen signifikanten Einfluss ( $p = 0,0016$ ). Signifikante Wechselwirkungen zwischen den beiden Faktoren kamen außerdem hinzu ( $p = 0,018$ ).

Es fällt auf, dass die Geradlinigkeit in der Kontrolle mit Zugabe des Lösungsmittels stets die größten Werte aufwies. Deshalb unterscheiden sich die Werte im SNK-Test zum Zeitpunkt 0 signifikant von den Mittelwerten der niedrigen und hohen Dinoprostkonzentration ( $p < 0,05$ ) und 2 Stunden später von den Werten der hohen Konzentration ( $p < 0,05$ ). Die dreifaktorielle hierarchische Varianzanalyse hatte einen signifikanten Effekt der eingesetzten Konzentrationen auf die Geradlinigkeit der Spermienbewegung zu den Zeitpunkten 0 ( $p = 0,019$ ) und 2 ( $p = 0,045$ ) nachgewiesen.

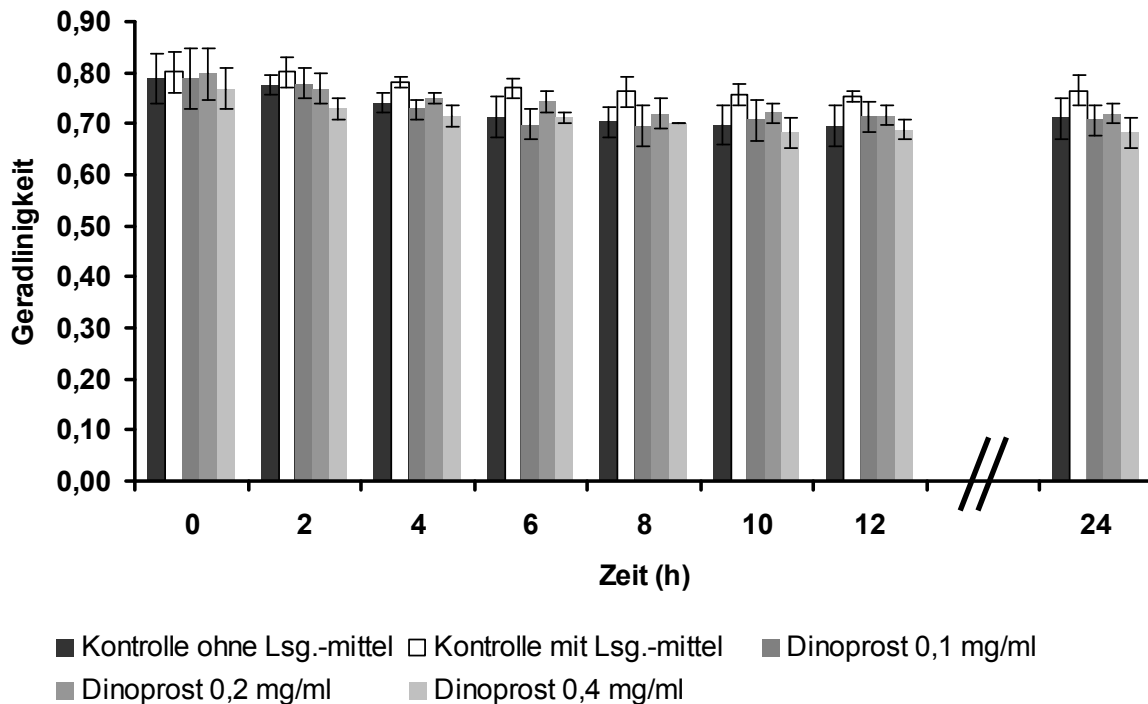


Abbildung 33: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Geradlinigkeit des durchschnittlichen Bewegungsablaufes in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen)

Mit dem Racemat des Cloprostenols (Abbildung 34) lagen in jeder Konzentration die Mittelwerte der Geradlinigkeit des durchschnittlichen Bewegungsablaufes direkt nach dem Auftauen knapp über denen der Kontrollen. Der Konzentrationseinfluss zu diesem Zeitpunkt war statistisch signifikant ( $p = 0,024$ ) und der SNK-Test ergab signifikante Unterschiede zwischen den Werten der Kontrolle ohne Lösungsmittel und der mittleren Konzentration Racemat ( $p < 0,05$ ). Nach 2 Stunden Lagerzeit war kein signifikanter Einfluss der Konzentrationen mehr vorhanden ( $p = 0,063$ ).

Den Unterschied zur Kontrolle ohne Lösungsmittel hielten die Spermien in 0,008 mg/ml Cloprostenol die gesamte Versuchsdauer über bei, so dass die Werte zu jedem Analysezeitpunkt etwas größer waren als die der Kontrollen. Dies ergibt sich aus der allgemeinen Datenbeschreibung.

In den beiden niedrigeren Konzentrationen glichen sich die Geradlinigkeiten immer mehr denen der Kontrollen an. Sie reduzierten sich außerdem stetig, so dass neben dem global statistisch signifikanten Einfluss der Wirkstoffkonzentration ( $p = 0,0011$ )

auch ein signifikanter Einfluss des Faktors Zeit bestand ( $p = 0,0019$ ). Statistisch signifikante Wechselwirkungen zwischen den beiden Faktoren gab es ebenfalls ( $p = 0,0019$ ).

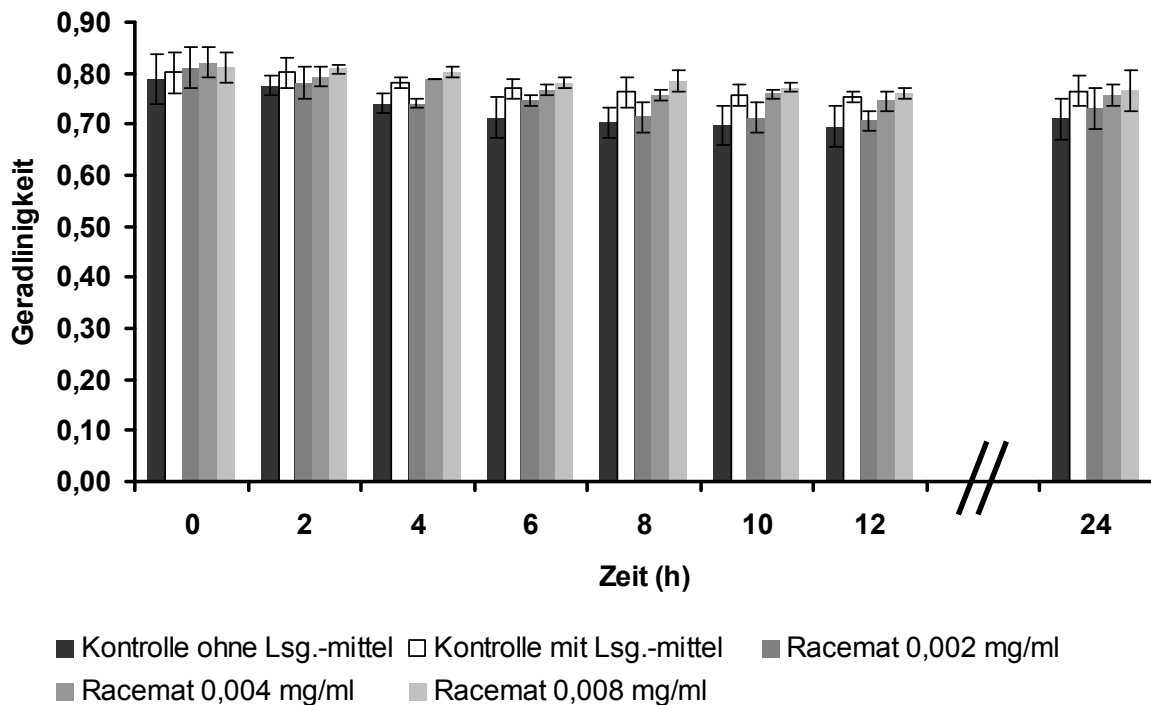


Abbildung 34: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Geradlinigkeit des durchschnittlichen Bewegungsablaufes in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen)

Die Werte nach Zugabe des Enantiomers (Abbildung 35) entwickelten sich über die Zeit sehr ähnlich denen nach Zugabe des Racemats. So lagen fast zu jedem Zeitpunkt die Geradlinigkeiten in der höchsten Konzentration über denen der Kontrollen. Direkt nach dem Auftauen zeigten die Spermien in allen drei Konzentrationen eine höhere Geradlinigkeit.

Die vierfaktorielle hierarchische Varianzanalyse ergab entsprechend einen global statistisch signifikanten Einfluss der eingesetzten Enantiomerkonzentrationen ( $p = 0,0014$ ). Der Faktor Zeit hatte zusätzlich einen signifikanten Effekt ( $p = 0,0033$ ) und signifikante Wechselwirkungen zwischen den beiden Faktoren waren ebenfalls vorhanden ( $p = 0,0003$ ).

Mit  $p = 0,044$  zum Zeitpunkt 0 und  $p = 0,026$  zwei Stunden später war in der dreifaktoriellen Varianzanalyse der signifikante Einfluss des Enantiomers auf die Geradlinigkeit nachweisbar. Im SNK-Test wurde deutlich, dass eine signifikante Differenz zwischen den Werten der mittleren und hohen Konzentration und der Kontrolle ohne Lösungsmittel zum Zeitpunkt 0 bestand ( $p < 0,05$ ). Nach 2 Stunden Lagerung war der Unterschied zwischen den Werten der hohen Konzentration und der Kontrolle ohne Lösungsmittel immer noch vorhanden ( $p < 0,05$ ).

Die allgemeine Datenbeschreibung zeigt, dass über die gesamte Versuchsdauer die Werte mit der hohen Konzentration Enantiomer über denen der Kontrolle ohne Lösungsmittel lagen.

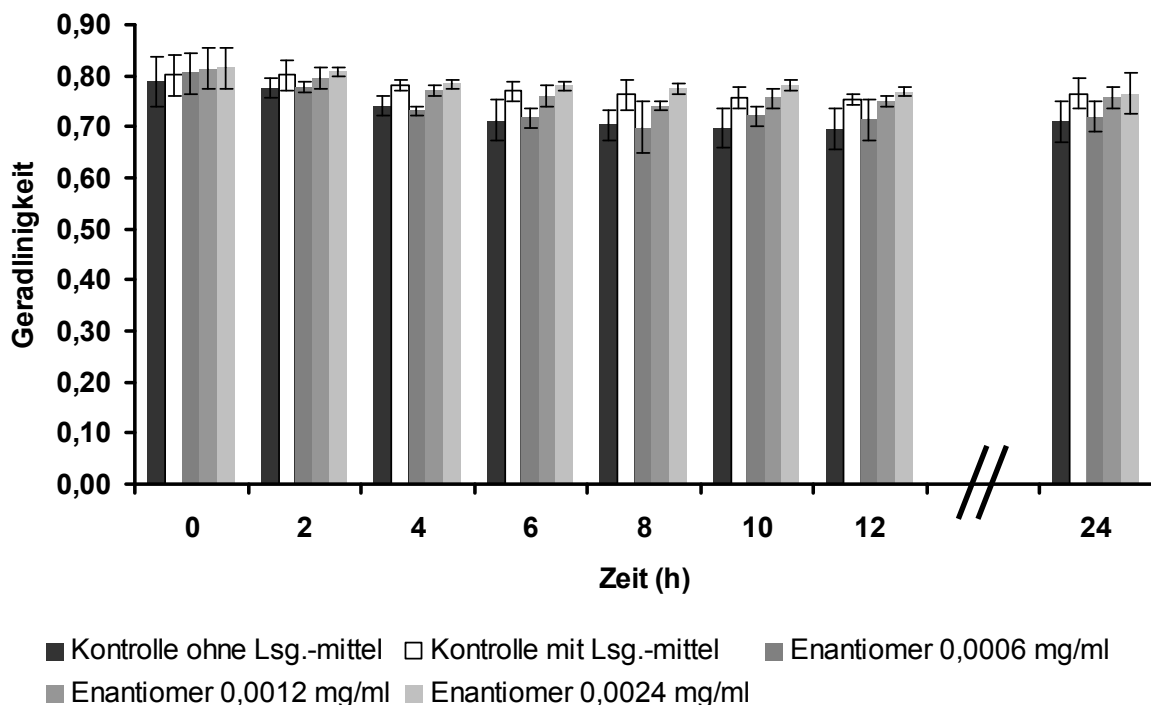


Abbildung 35: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Geradlinigkeit des durchschnittlichen Bewegungsablaufes in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen)

#### 4.2.11 Auslenkung der Spermienbewegung (WOB)

Die Auslenkung der Spermienbewegung wird in Form der Mittelwerte aus den 9 Durchgängen und der Standardabweichung aus Versuch 1 in Tabelle 27 in Anhang 1 aufgeführt. Die Balkendiagramme in den Abbildungen 36 bis 38 stellen die Ergebnisse graphisch dar.

Die Mittelwerte der Auslenkung der Spermienbewegung waren in der hohen Konzentration Dinoprost zu jedem Analysezeitpunkt kleiner als die der Kontrollen (Abbildung 36). Insgesamt veränderten sich die Werte kaum. In den Kontrollen gingen sie nur in den ersten 4 bis 6 Stunden zurück und mit Zugabe von Dinoprost hatten sie sich nach 2 bis 4 Stunden auf einem Niveau eingependelt. Dennoch war der Einfluss des Faktors Zeit statistisch signifikant ( $p = 0,0035$ ).

Die Spermien in den beiden niedrigeren Konzentrationen Dinoprost verhielten sich bezüglich der Auslenkung ihrer Bewegung ähnlich denen ohne Zusatz von Lösungsmittel. Im Vergleich mit den beiden Kontrollen fällt auf, dass ab den Analysen nach 4 Stunden Lagerzeit die Kontrolle mit Zusatz von Lösungsmittel die größten Auslenkungen zeigte.

Insgesamt hatte die vierfaktorielle Varianzanalyse zum Ergebnis, dass der Einfluss der Dinoprostkonzentrationen statistisch signifikant war ( $p = 0,0004$ ) und signifikante Wechselwirkungen mit dem Faktor Zeit nicht aufgetreten sind ( $p = 0,16$ ).

Die dreifaktorielle Varianzanalyse zeigte, dass zu den ersten beiden Zeitpunkten ein statistisch signifikanter Effekt der eingesetzten Konzentrationen vorhanden war. Zum Zeitpunkt 0 ( $p = 0,042$ ) war im SNK-Test der Unterschied zwischen den Werten der hohen Konzentration und der Kontrolle ohne Lösungsmittel ausschlaggebend ( $p < 0,05$ ). Zwei Stunden später ( $p = 0,0071$ ) war ebenfalls die Reduktion der Auslenkung in der hohen Konzentration im Vergleich zur Kontrolle mit ( $p < 0,01$ ) und ohne ( $p < 0,05$ ) Lösungsmittel entscheidend.

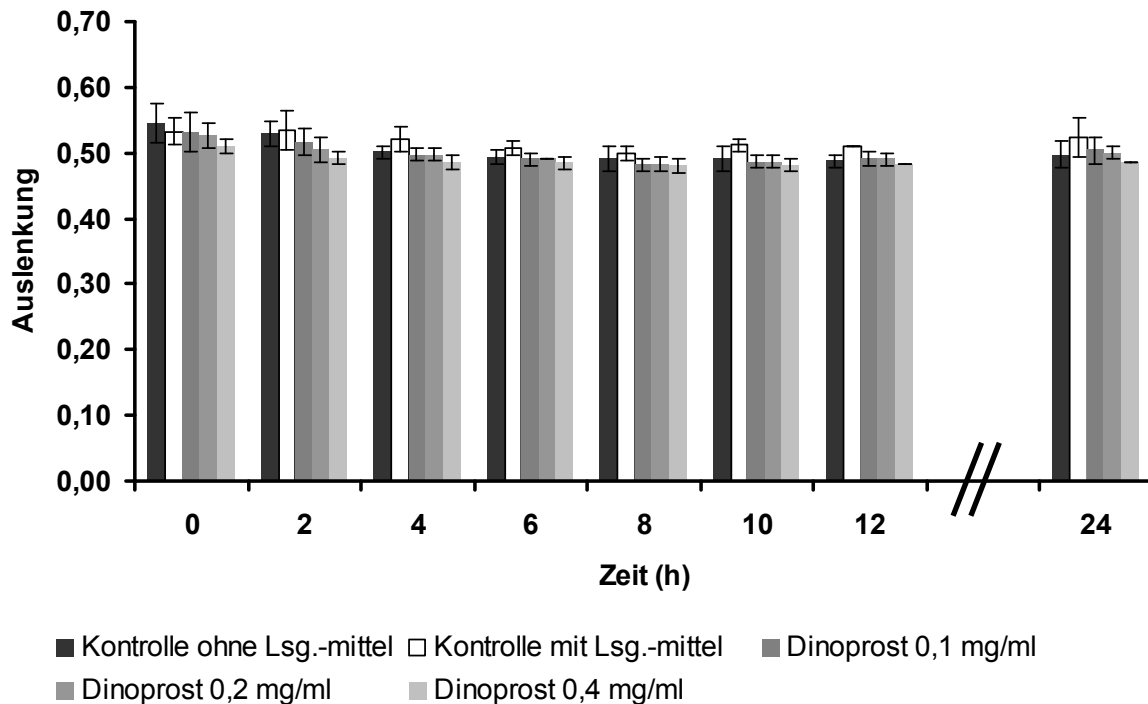


Abbildung 36: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Auslenkung der Spermienbewegung in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen)

Dagegen waren mit Zugabe des Cloprostenol in Form des Racemats (Abbildung 37) die Mittelwerte der Auslenkung der Spermienbewegung in der hohen Konzentration meist höher als die der Kontrollen. Auch mit der mittleren Konzentration zeigten die Spermien zu den ersten drei Messzeitpunkten größere Auslenkungen ihrer Bewegung. In der niedrigen Konzentration war direkt nach dem Auftauen die Auslenkung auch noch größer als in den Kontrollen, glich sich diesen in den folgenden Analysen jedoch an. Somit hatten die eingesetzten Konzentrationen einen global statistisch signifikanten Einfluss auf die Auslenkung der Spermienbewegung ( $p = 0,0003$ ), ebenso wie der Faktor Zeit ( $p = 0,0074$ ), da sich insgesamt die Auslenkung wieder reduzierte und zum letzten Analysezeitpunkt noch einmal anstieg. Signifikante Wechselwirkungen zwischen den beiden Faktoren waren ebenfalls vorhanden ( $p = 0,0011$ ).

Der statistisch signifikante Einfluss zum Zeitpunkt 0 mit  $p = 0,017$  in der dreifaktoriellen Varianzanalyse wird im SNK-Test mit signifikanten Differenzen zwischen den Werten mit Zugabe dreier Konzentrationen Racemat und der Kontrolle

mit Lösungsmittel begründet. Statistisch signifikante Unterschiede zur Kontrolle ohne Lösungsmittel gabs zu diesem Zeitpunkt nicht. Zwei Stunden später war kein signifikanter Einfluss auf die Auslenkung der Spermienbewegung vorhanden ( $p = 0,55$ ).

Der allgemeinen Datenbeschreibung zufolge wird durch die hohe Konzentration Racemat die Auslenkung ab dem Messzeitpunkt 6 Stunden nach dem Auftauen positiv beeinflusst.

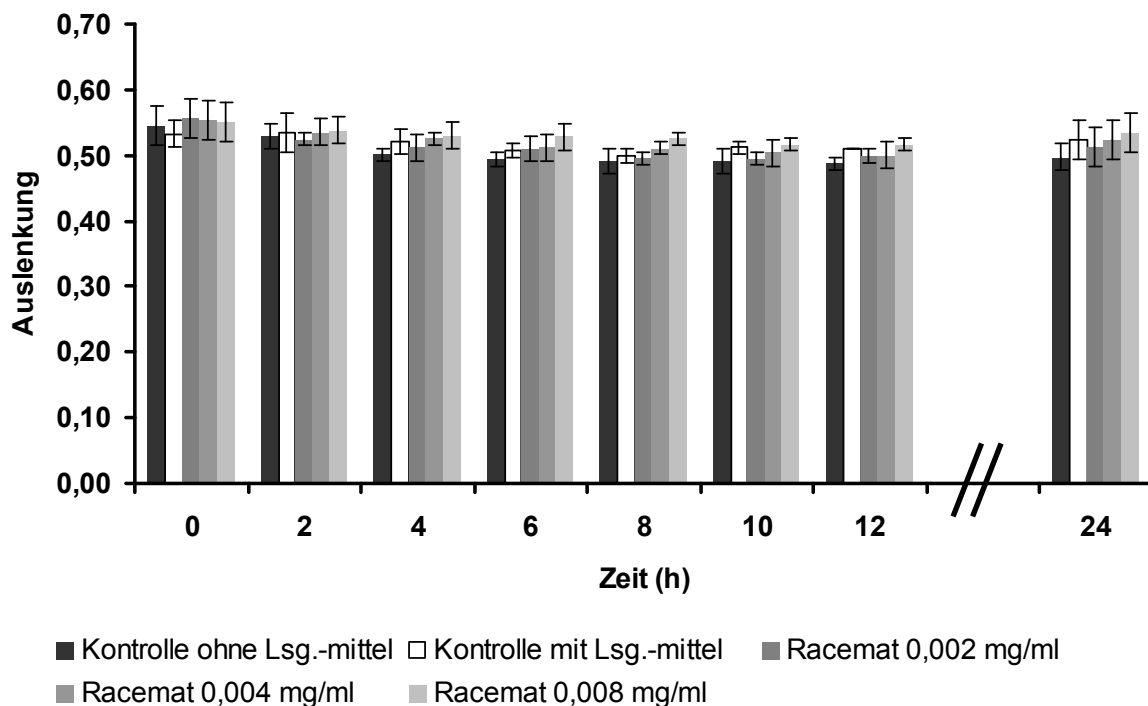


Abbildung 37: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Auslenkung der Spermienbewegung in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen)

Im Grunde dieselbe Entwicklung machte die Auslenkung der Spermienbewegung nach Zugabe dreier Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer (Abbildung 38) durch. Der Einfluss der Konzentrationen ( $p = 0,0011$ ) und der des Faktors Zeit ( $p = 0,0090$ ) waren statistisch signifikant. Die Wechselwirkungen zwischen den beiden Faktoren ebenfalls ( $p = 0,031$ ).

In der dreifaktoriellen Varianzanalyse war der Einfluss der Konzentrationen zum Zeitpunkt 0 nicht signifikant ( $p = 0,16$ ), zwei Stunden später gab es einen

signifikanten Effekt ( $p = 0,033$ ). Dieser war begründet in der signifikanten Differenz zwischen der hohen und niedrigen Konzentration zu diesem Zeitpunkt ( $p < 0,05$ ).

Die allgemeine Datenbeschreibung zeigt, dass die Auslenkung in der hohen Konzentration ab dem Zeitpunkt 4 Stunden nach dem Auftauen stetig gesteigert wurde im Vergleich zu den Kontrollen.

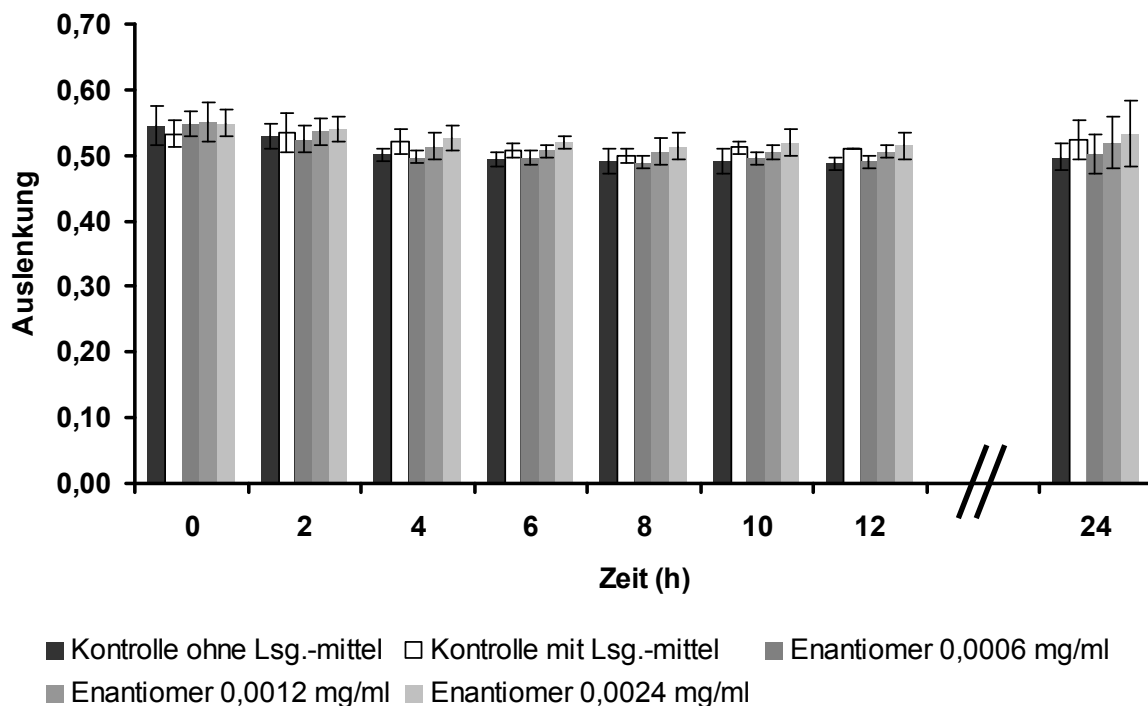


Abbildung 38: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Auslenkung der Spermienbewegung in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen)



#### 4.2.12 Frequenz der lateralen Kopfbewegungen (BCF)

Die Ergebnisse für die Frequenz der lateralen Kopfbewegungen in Form der arithmetischen Mittelwerte in Verbindung mit der Standardabweichung sind in Tabelle 28 in Anhang 1 aufgelistet. Die nachfolgenden Abbildungen 39 bis 41 stellen diese außerdem als Balkendiagramme dar.

In der niedrigen Konzentration Dinoprost (Abbildung 39) bestand zu Beginn kein Unterschied zur Kontrolle und die Mittelwerte in der mittleren waren etwas höher. Zu den restlichen Zeitpunkten waren jedoch in allen drei eingesetzten Konzentrationen die Mittelwerte der Frequenz kleiner als die der Kontrollen. Vor allem die Spermien in der hohen Konzentration reduzierten im Laufe der Versuchsdauer die Frequenz deutlich und am schnellsten im Vergleich zu den anderen beiden Konzentrationen. Die Spermien der niedrigen und der mittleren Konzentration verhielten sich in der Hinsicht recht ähnlich.

Somit lag ein statistisch signifikanter Einfluss der verwendeten Konzentrationen ( $p = 0,0091$ ) und des Faktors Zeit vor ( $p = 0,0032$ ). Signifikante Wechselwirkungen zwischen den beiden Faktoren gab es ebenfalls ( $p = 0,019$ ).

Die dreifaktorielle hierarchische Varianzanalyse zum Zeitpunkt 0 ergab einen signifikanten Effekt auf die Frequenz der lateralen Kopfbewegungen ( $p = 0,016$ ). Der SNK-Test zeigte, dass sich die Frequenz in der hohen Konzentration Dinoprost direkt nach dem Auftauen im Vergleich zu allen anderen Mittelwerten signifikant reduzierte ( $p < 0,05$ ).

Zwei Stunden später war ebenfalls ein signifikanter Einfluss der Dinoprostkonzentrationen vorhanden ( $p = 0,015$ ). So reduzierten sich die Frequenzen dem SNK-Test zufolge in der hohen Konzentration im Vergleich zu den anderen Mittelwerten signifikant ( $p < 0,05$ ). Lediglich die Differenz zur mittleren Konzentration war nicht signifikant.

Die allgemeine Datenbeschreibung verdeutlicht, dass es während der gesamten Versuchsdauer zu einer Reduktion der Frequenz der lateralen Kopfbewegung in der hohen Konzentration Dinoprost gekommen war.

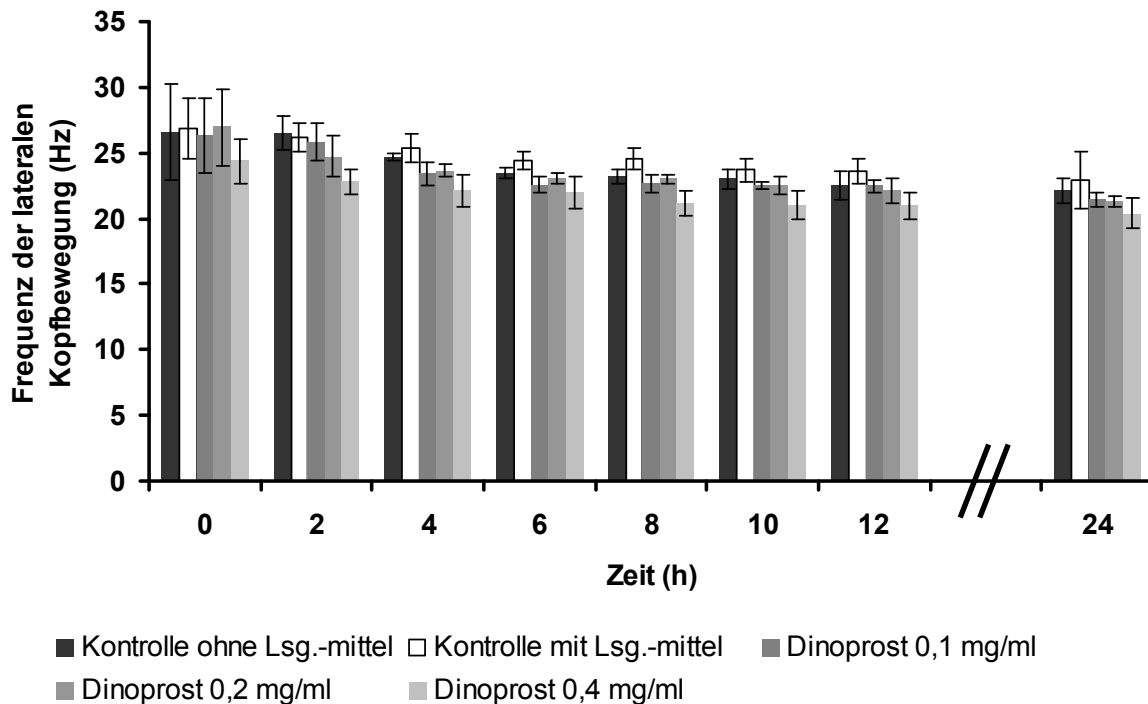


Abbildung 39: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Frequenz der lateralen Kopfbewegungen (Hz) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen)

Ein etwas anderes Bild ergab sich mit dem Einsatz des synthetischen Prostaglandins in Form des Racemats (Abbildung 40). Direkt nach dem Auftauen lagen hier die Frequenzen in allen drei Konzentrationen knapp über denen der Kontrollen. Dennoch war der Effekt des Racemats zu diesem Zeitpunkt nicht signifikant ( $p = 0,095$ ). Eine Messung später waren dann die Mittelwerte in den Kontrollen und den Wirkstoffkonzentrationen recht ähnlich und der Unterschied in der dreifaktoriellen hierarchischen Varianzanalyse erneut nicht signifikant ( $p = 0,97$ ). In der niedrigen Konzentration setzte sich dieser Trend weiter fort, so dass sich die Frequenzen zwar weiter reduzierten, aber nie wesentliche Unterschiede zu den Kontrollen aufwiesen. Die vierfaktorielle hierarchische Varianzanalyse zeigte zwar, dass der globale Effekt der eingesetzten Racematmengen nicht statistisch signifikant war ( $p = 0,23$ ), dass es aber auch signifikante Wechselwirkungen zwischen den Faktoren Zeit und Konzentration gab ( $p = 0,026$ ). Der Faktor Zeit hatte ebenfalls einen signifikanten Einfluss ( $p = 0,0040$ ).

Der allgemeinen Datenbeschreibung lässt sich entnehmen, dass in den beiden hohen Konzentrationen die Frequenzen zu fast allen Zeitpunkten höher als die der Kontrollen lagen. Vor allem in der hohen Konzentration wurden die Frequenzen ab dem Messzeitpunkt nach 4 Stunden Lagerung gesteigert.

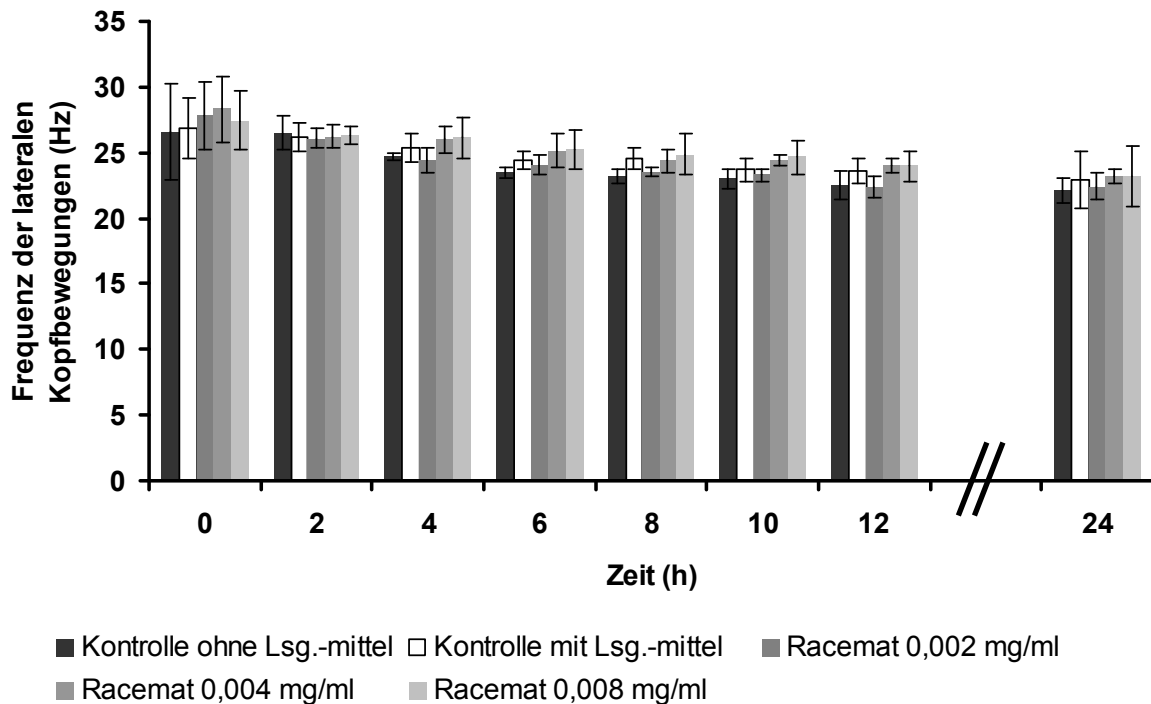


Abbildung 40: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Frequenz der lateralen Kopfbewegungen (Hz) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen)

Mit dem Einsatz des Enantiomers (Abbildung 41) lagen die Mittelwerte der Versuchsreihen zu Beginn etwas höher und 2 Stunden später auf demselben Niveau wie die Kontrollen. Ähnlich dem Zusatz des Racemats ergab die dreifaktorielle hierarchische Varianzanalyse jedoch zu keinem der beiden ersten Analysezeitpunkte einen signifikanten Effekt ( $p = 0,23$  und  $p = 0,86$ ).

Die Spermien der niedrigen Konzentration unterschieden sich wieder nicht von den Kontrollen und in den beiden höheren Konzentrationen war die Frequenz zwar meistens höher als die Kontrollen, aber die vierfaktorielle hierarchische Varianzanalyse konnte mit  $p = 0,21$  keinen statistisch signifikanten Einfluss der Wirkstoffkonzentration auf die Frequenz der lateralen Kopfbewegungen mit dem

Enantiomer nachweisen. Signifikante Wechselwirkungen zwischen den Faktoren Zeitpunkt und Konzentration waren ebenfalls nicht vorhanden ( $p = 0,071$ ). Der Faktor Zeit alleine übte jedoch einen signifikanten Einfluss aus ( $p = 0,0047$ ).

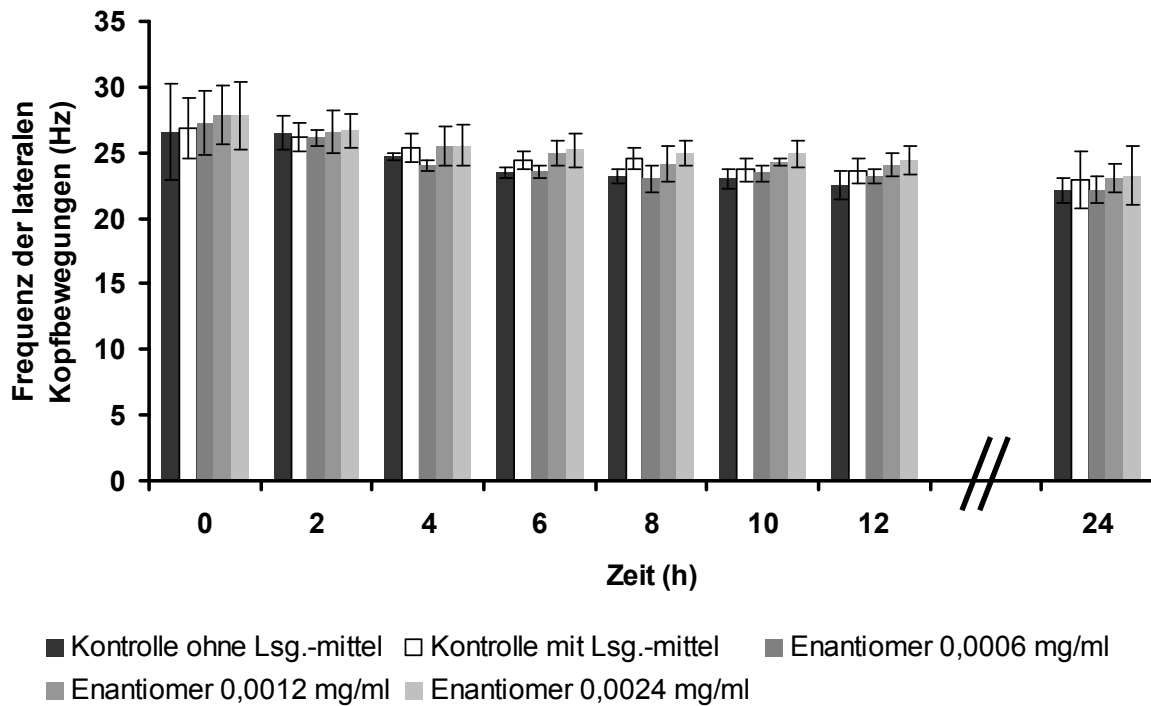


Abbildung 41: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Frequenz der lateralen Kopfbewegungen (Hz) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen)

#### 4.2.13 Amplitude der lateralen Kopfbewegungen (ALH)

Die Amplituden der lateralen Kopfbewegungen werden als arithmetische Mittelwerte aus den 9 Durchgängen in Versuch 1 zusammen mit der Standardabweichung in Tabelle 29 in Anhang 1 aufgeführt. Außerdem finden sich in diesem Kapitel Balkendiagramme, welche die Ergebnisse zusätzlich darstellen (Abbildungen 42 bis 44).

Bei den Amplituden der lateralen Kopfbewegungen handelt es sich um einen Motilitätsparameter, der im Laufe der Versuchsdauer zunahm. Zu Beginn der Analysen lagen Werte von  $4,25 \pm 0,38 \mu\text{m}$  in der Kontrolle ohne und von  $4,48 \pm 0,49 \mu\text{m}$  mit Lösungsmittel vor. Diese steigerten sich im Anschluss und erreichten im Zeitraum 8 bis 12 Stunden nach dem Auftauen ein Maximum, um anschließend wieder etwas abzufallen.

Während der gesamten Analysenzeit zeigten die Spermien in 0,4 mg/ml Dinoprost (Abbildung 42) die größten Amplituden. Das Maximum hier war 10 Stunden nach dem Auftauen erreicht und betrug  $5,41 \pm 0,20 \mu\text{m}$ . Anschließend fielen die Werte wieder ab. Zum Zeitpunkt 0 war dieser Effekt der dreifaktoriellen Varianzanalyse zufolge noch nicht vorhanden ( $p = 0,073$ ). Zwei Stunden später war der Einfluss der hohen Konzentration Dinoprost dafür umso deutlicher ( $p = 0,0053$ ). Die Werte in 0,4 mg/ml unterschieden sich signifikant von den Mittelwerten der beiden Kontrollen und der niedrigen Konzentration im SNK-Test ( $p < 0,01$ ).

Der allgemeinen Datenbeschreibung zufolge waren die Amplituden in 0,4 mg/ml Dinoprost zwar immer die größten, allerdings flachte der Unterschied zu den anderen Werten im Laufe des Versuchs ab. Die Amplituden der Spermien in 0,1 und 0,2 mg/ml unterschieden sich nur unwesentlich von der Kontrolle ohne Lösungsmittel. Die Werte der Kontrolle mit Lösungsmittel waren meist kleiner als der Rest.

Die Varianzanalyse hatte einen statistisch signifikanten Einfluss der eingesetzten Dinoprostkonzentrationen auf die Amplituden der Spermienbewegungen zum Ergebnis ( $p = 0,020$ ). Außerdem war der Einfluss des Faktors Zeit statistisch signifikant ( $p = 0,0007$ ), genauso wie die Wechselwirkungen zwischen den beiden Faktoren ( $p = 0,019$ ).

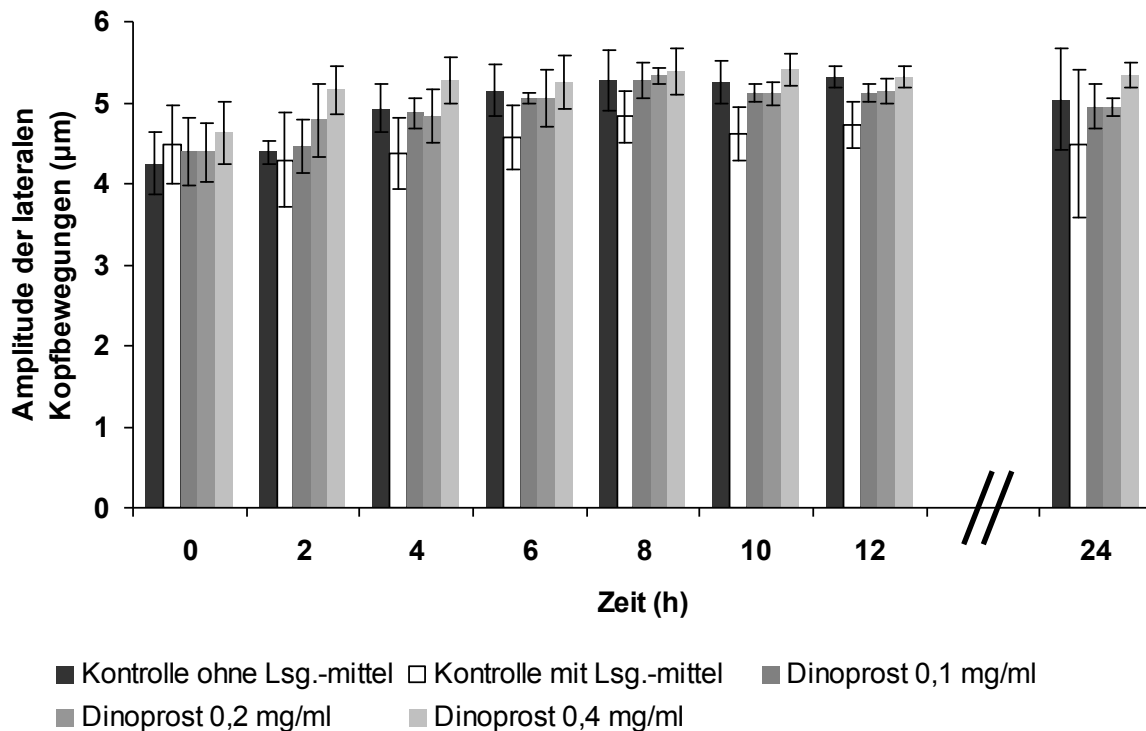


Abbildung 42: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Amplitude der lateralen Kopfbewegungen ( $\mu\text{m}$ ) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen)

Zu Beginn und 2 Stunden später waren die Mittelwerte der Amplituden der lateralen Kopfbewegungen nach Zugabe des Cloprostenol-Racemats (Abbildung 43) noch sehr ähnlich denen der Kontrolle. Dies bestätigte die dreifaktorielle Varianzanalyse für die beiden Zeitpunkte 0 ( $p = 0,11$ ) und 2 ( $p = 0,94$ ).

Jedoch entwickelten sich die Amplituden mit Zugabe der verschiedenen Cloprostenolkonzentrationen im Laufe der restlichen Versuchsdauer anders als die der Kontrolle. Obwohl die Amplituden in allen Konzentrationen mit der Zeit zunahm, mit einem Maximum nach 12 Stunden, traten zu den verbleibenden Zeitpunkten große Unterschiede auf. Vor allem in der hohen Konzentration kam es zu einer deutlichen Reduktion.

Die vierfaktorielle Varianzanalyse konnte den Einfluss der eingesetzten Cloprostenolkonzentrationen bestätigen ( $p = 0,029$ ). Der Einfluss des Faktors Zeit war ebenfalls statistisch signifikant ( $p = 0,027$ ). Signifikante Wechselwirkungen zwischen den beiden Faktoren gab es außerdem ( $p = 0,0009$ ).

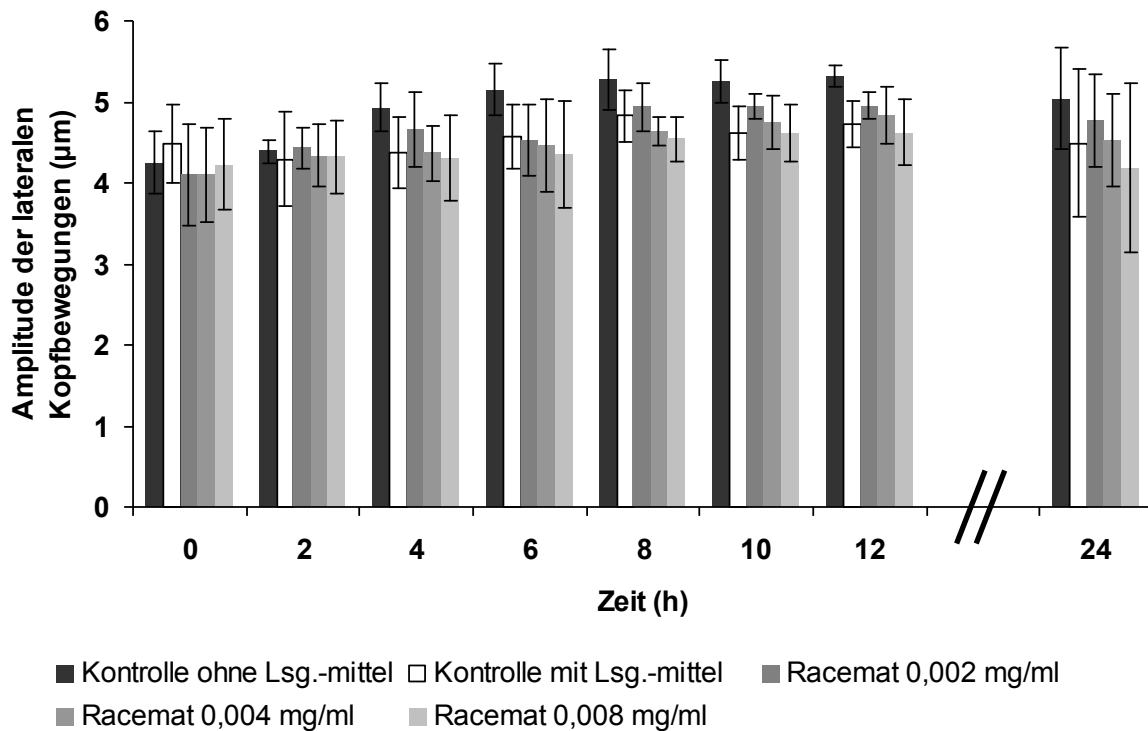


Abbildung 43: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Amplitude der lateralen Kopfbewegungen ( $\mu\text{m}$ ) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen)

Der Verlauf nach Zugabe des Enantiomers (Abbildung 44) war dem mit Racemat sehr ähnlich. Es lag insgesamt erneut eine Zunahme der Amplituden mit einem Maximum bei den Analysen nach 12 Stunden vor. Außerdem waren die Amplituden vor allem in der hohen Konzentration kleiner als die der Kontrolle ohne Lösungsmittel, wohingegen zwischen den Werten der niedrigen Konzentration und den Kontrollen keine wesentlichen Unterschiede bestanden.

Die dreifaktorielle hierarchische Varianzanalyse für die ersten beiden Messzeitpunkte zeigte jedoch, dass direkt nach dem Auftauen ( $p = 0,055$ ) und zwei Stunden danach ( $p = 0,69$ ) der o. g. signifikante Effekt noch nicht vorhanden war.

Die globale vierfaktorielle hierarchische Varianzanalyse ergab, obwohl kein statistisch signifikanter Einfluss der Prostaglandinkonzentration nachweisbar war ( $p = 0,073$ ), dass aufgrund der signifikanten Wechselwirkungen zwischen den Faktoren Zeit und Konzentration ( $p = 0,0023$ ) ein Effekt der zugesetzten

Enantiomerkonzentrationen vorhanden gewesen sein muss. Der Einfluss des Faktors Zeit war ebenfalls signifikant ( $p = 0,022$ ).

Aus der allgemeinen Datenbeschreibung lässt sich entnehmen, dass ab dem Analysezeitpunkt nach 4 Stunden Lagerung die Amplituden in der mittleren und vor allem in der hohen Konzentration Enantiomer deutlich zurückgingen im Vergleich zur Kontrolle ohne Lösungsmittel.

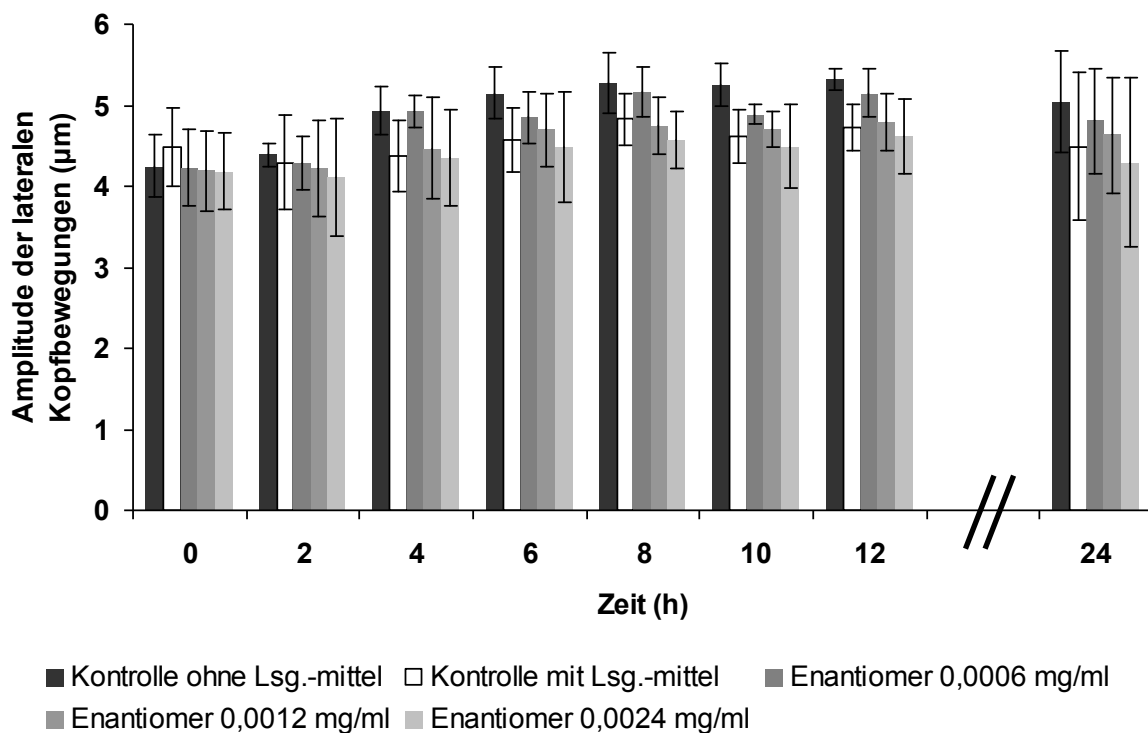


Abbildung 44: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Amplitude der lateralen Kopfbewegungen ( $\mu\text{m}$ ) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen)



### 4.3 Versuch 2

Für die Analysen in Versuch 2 kamen Besamungsportionen von zehn verschiedenen Bullen zum Einsatz. Pro Bulle wurden jeweils drei einzelne Versuchsdurchgänge durchgeführt, so dass insgesamt  $n = 30$  Messwiederholungen für die Auswertung von Versuch 2 zur Verfügung standen.

#### 4.3.1 Anteil beweglicher Spermien

Die arithmetischen Mittelwerte der Anteile beweglicher Spermien und die Standardabweichungen in Versuch 2 sind in Anhang 2 (Tabelle 30) aufgeführt. Die Abbildungen 45 bis 47 zeigen den Verlauf der arithmetischen Mittelwerte der Anteile beweglicher Spermien über die Zeit, jeweils für ein Prostaglandinpräparat in den unterschiedlichen Wirkstoffkonzentrationen und die jeweilige Kontrolle.

##### 4.3.1.1 Anteil beweglicher Spermien nach Zugabe von Dinoprost

Die Kontrolle zeigte direkt nach dem Auftauen einen Mittelwert von  $62,36 \pm 9,03 \%$ . Deutlich aus dem Balkendiagramm zu entnehmen ist der Rückgang dieser Anteile in den ersten beiden Stunden. Die Kontrolle fiel in diesem Intervall auf  $53,09 \pm 9,77 \%$  ab und hielt dieses Niveau die folgenden 10 Stunden. Erst im letzten Intervall fielen die Werte auf mittlere  $45,02 \pm 13,68 \%$  bewegliche Spermien ab.

Nach Zugabe des natürlichen Prostaglandins  $F_{2\alpha}$  wurden sehr ähnliche Werte ermittelt. Nach 24 Stunden Lagerzeit lagen die prozentualen Anteile in allen drei eingesetzten Konzentrationen knapp über den Werten der Kontrolle. Zusätzlich zeigten die Ergebnisse nach 2 und 6 Stunden Lagerzeit teilweise geringgradig höhere Werte als die Kontrolle. Die vierfaktorielle Varianzanalyse konnte jedoch keinen Unterschied zwischen den einzelnen Wirkstoffkonzentrationen und der Kontrolle feststellen ( $p = 0,52$ ). Entsprechend bietet das Balkendiagramm (Abbildung 45) ein recht einheitliches Bild.

Es wird außerdem ersichtlich, dass die Gesamtmotilität im Laufe der Versuchsdauer abnahm. Dies bestätigte die Varianzanalyse. Der Faktor Zeit hatte in Versuch 2 einen hoch signifikanten Einfluss auf den Anteil beweglicher Spermien ( $p < 0,0001$ ). Signifikante Wechselwirkungen zwischen den beiden Faktoren Zeit und Konzentration gab es keine ( $p = 0,25$ ).

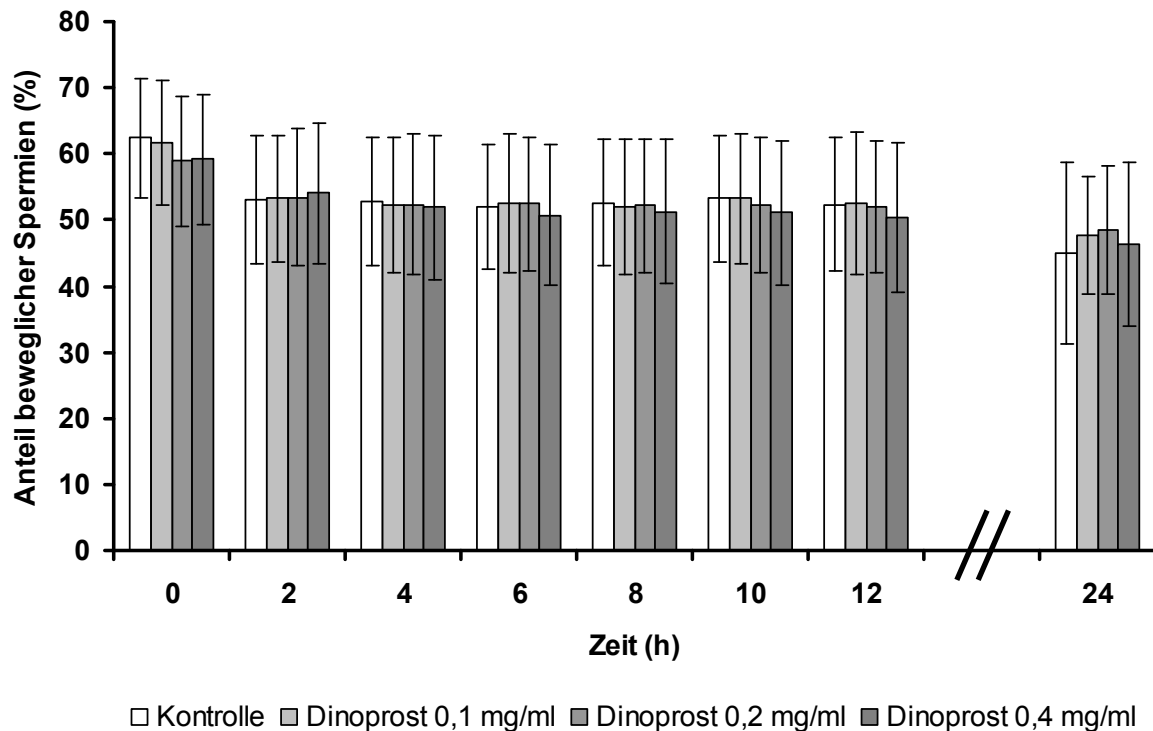


Abbildung 45: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Anteile beweglicher Spermien (%) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei n = 30 Messwiederholungen)

#### 4.3.1.2 Anteil beweglicher Spermien nach Zugabe von Cloprostenol - Racemat

Bereits direkt nach dem Auftauen mit anschließender Zugabe des Racemates des synthetischen  $\text{PGF}_{2\alpha}$  zeigten die Proben in jeder Konzentration geringere Anteile beweglicher Spermien als die Kontrolle. Die Kontrolle lag im Mittel bei  $62,94 \pm 8,94$  %, wohingegen die Proben mit Cloprostenol Mittelwerte von  $60,31 \pm 10,09$  % in der hohen,  $60,83 \pm 9,94$  % in der mittleren und  $62,13 \pm 9,51$  % in der niedrigen Konzentration aufwiesen.

In der vierfaktoriellen hierarchischen Varianzanalyse konnte ein statistisch signifikanter Einfluss festgestellt werden ( $p = 0,0010$ ). Die anschließende dreifaktorielle Varianzanalyse zum Zeitpunkt 0 ergab ebenfalls einen statistisch signifikanten Einfluss der eingesetzten Konzentrationen auf die Gesamtmotilität ( $p = 0,0028$ ).

Im SNK-Test wurde verdeutlicht, dass die Gesamtmotilität in der hohen Konzentration Racemat deutlich von der Kontrolle abweicht ( $p < 0,01$ ), aber auch der Unterschied zwischen der niedrigen Konzentration und der hohen Konzentration war signifikant ( $p < 0,05$ ). Hinzu kam ein signifikanter Einfluss der mittleren Konzentration auf die Gesamtmotilität im Vergleich zu der Kontrolle ( $p < 0,05$ ) zum Zeitpunkt 0.

Nach 2 Stunden Lagerzeit verringerte sich die Differenz zur Kontrolle und der Mittelwert in der hohen Konzentration lag minimal höher, so dass kein signifikanter Unterschied zu diesem Zeitpunkt mehr bestand ( $p = 0,42$ ).

Die allgemeine Datenbeschreibung zeigt, dass der Unterschied im Laufe der restlichen Versuchsdauer weiter bestehen blieb und vor allem in der hohen Konzentration Cloprostenol (0,008 mg/ml) deutlicher wurde, so dass nach 24 Stunden hier die geringsten Anteile beweglicher Spermien vorhanden waren.

Der Faktor Zeit hatte einen statistisch hoch signifikanten Einfluss ( $p < 0,0001$ ) und signifikante Wechselwirkungen zwischen den Faktoren Zeit und Konzentration gab es ebenfalls ( $p = 0,045$ ).

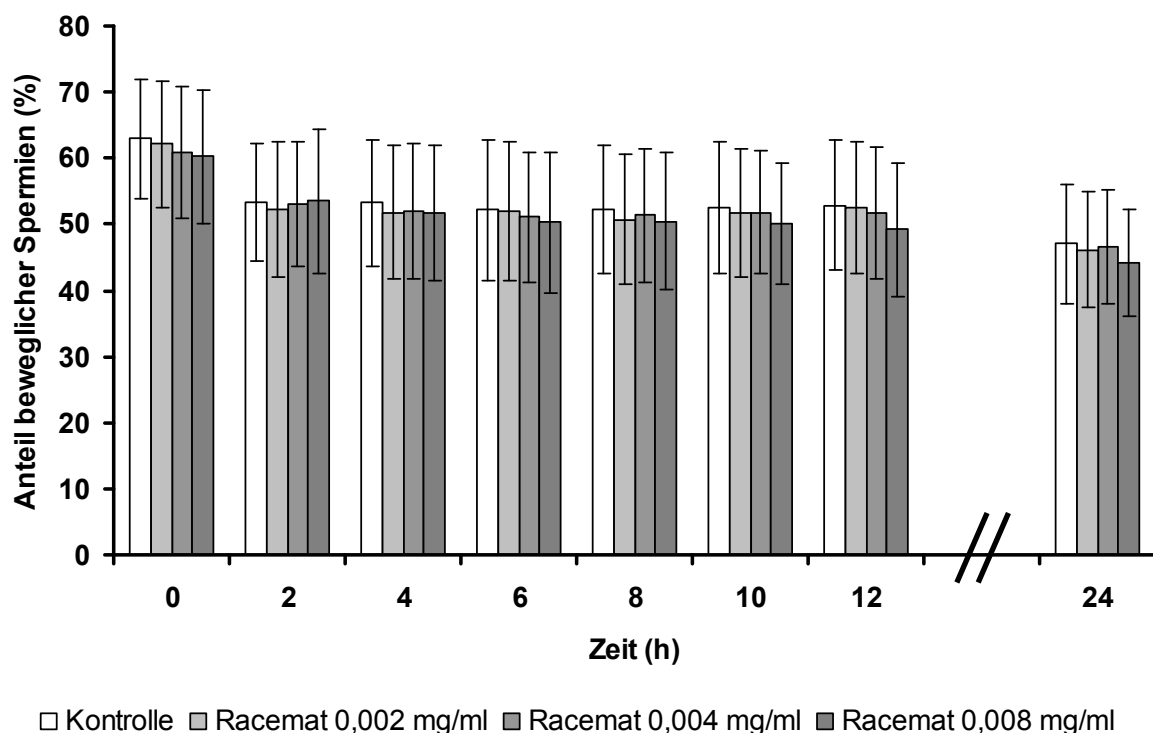


Abbildung 46: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Anteile beweglicher Spermien (%) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei  $n = 30$  Messwiederholungen)

#### 4.3.1.3 Anteil beweglicher Spermien nach Zugabe von Cloprostenol - Enantiomer

Die Kontrolle dieser Versuchseinheit wies zu Beginn der Analysen mit  $64,28 \pm 8,34$  % die größten Anteile beweglicher Spermien in Versuch 2 auf. Jedoch folgte ein Rückgang um circa 10 % in den ersten 2 Stunden und ein erneuter Abfall im letzten Analysenintervall auf  $45,07 \pm 10,26$  % bewegliche Spermien.

Die Zugabe des Cloprostenol-Enantiomers konnte diesen Rückgang nicht verhindern. Die Varianzanalyse kommt zu dem Ergebnis, dass die Konzentration einen signifikanten Einfluss auf die Gesamtbeweglichkeit hat ( $p = 0,0003$ ). Die arithmetischen Mittelwerte waren bereits direkt nach dem Auftauen nach Zugabe der entsprechenden Mengen von synthetischem Prostaglandin  $F_{2\alpha}$  kleiner. Sie lagen im Mittel bei  $61,72 \pm 9,20$  % in der hohen, bei  $61,08 \pm 8,24$  % in der mittleren und bei  $61,36 \pm 8,28$  % in der niedrigen Konzentration zu Beginn der Messungen. Dieser Unterschied war bereits statistisch signifikant ( $p = 0,0079$ ) und der SNK-Test zeigt deutlich, dass bereits zum Zeitpunkt 0 sich die Gesamtbeweglichkeiten in allen drei Wirkstoffkonzentrationen signifikant von der Kontrolle unterschieden ( $p < 0,05$ ).

Es folgte eine Reduktion der Anteile beweglicher Spermien im ersten und letzten Zeitintervall, so dass der Faktor Zeit einen signifikanten Einfluss ausübte ( $p < 0,0001$ ). Zum Zeitpunkt 2 waren die Unterschiede zur Kontrolle nicht mehr statistisch signifikant ( $p = 0,46$ ).

Die allgemeine Datenbeschreibung zeigt, dass die Anteile beweglicher Spermien in der hohen Konzentration Cloprostenol-Enantiomer während der folgenden Versuchsdauer am schnellsten und am stärksten abnahmen. So unterschritten diese bereits nach 8 Stunden im Wärmeschrank die 50 %-Marke und unterschieden sich immer deutlicher von den Werten der Kontrolle.

Die Varianzanalyse kam zu dem Ergebnis, dass signifikante Wechselwirkungen zwischen den Faktoren Zeit und Konzentration vorlagen ( $p = 0,0061$ ).

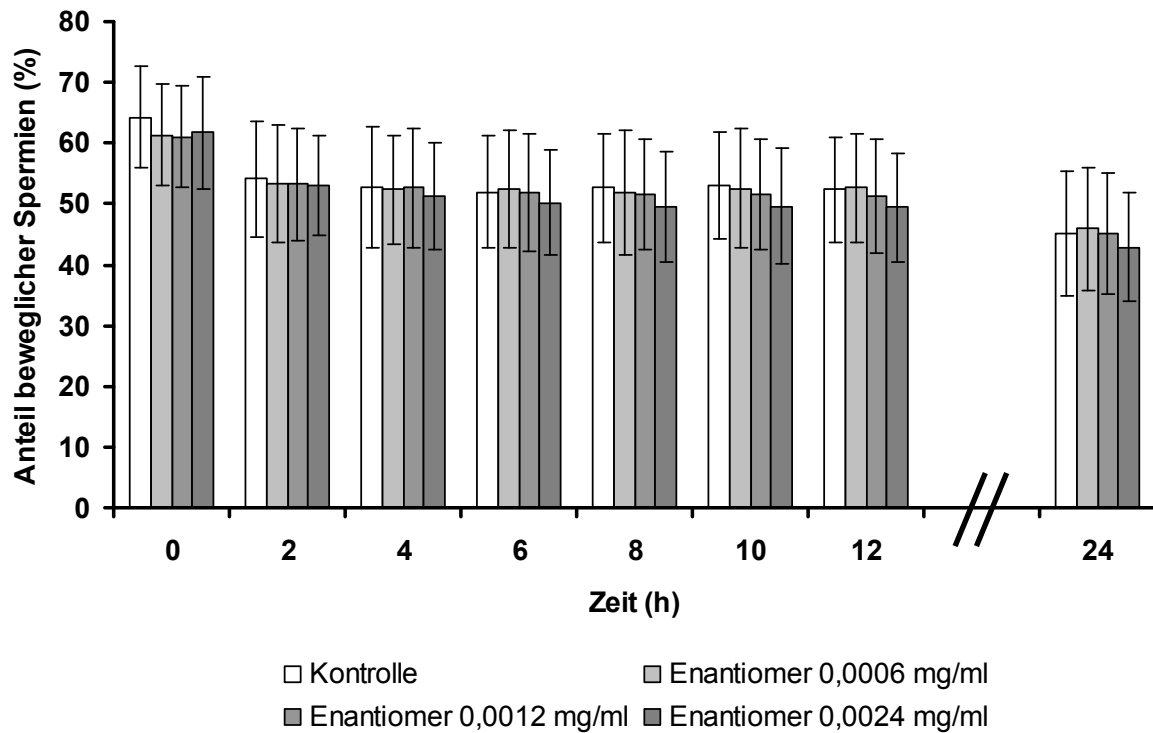


Abbildung 47: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Anteile beweglicher Spermien (%) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostamol-Enantiomer und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei n = 30 Messwiederholungen)

### 4.3.2 Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien

Der Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien an der Gesamtzahl beweglicher Spermien (%) wird in Tabelle 31 in Anhang 2 in Form der arithmetischen Mittelwerte und der Standardabweichung aufgeführt. Außerdem sind die Ergebnisse in Form von Balkendiagrammen in den Abbildungen 48 bis 50 dargestellt. Dies erfolgt getrennt nach zugegebenem Prostaglandinpräparat in Verbindung mit der dazugehörigen Kontrolle.

#### 4.3.2.1 Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien nach Zugabe von Dinoprost

Die Anteile vorwärtsbeweglicher Spermien waren zu Beginn der Analysen in der Kontrolle am größten ( $56,39 \pm 9,35$  %). Mit der Zugabe des natürlichen Prostaglandins (Abbildung 48) lagen im Mittel noch zwischen  $53,00 \pm 9,89$  % vorwärtsbewegliche Spermien in der hohen und  $55,76 \pm 9,31$  % in der niedrigen Konzentration vor. Allerdings gab es der vierfaktoriellen hierarchischen Varianzanalyse zufolge keinen signifikanten Einfluss der Wirkstoffkonzentrationen auf die Vorwärtsbeweglichkeit der Spermien ( $p = 0,61$ ).

Ab dem zweiten Analysenzeitpunkt nach 2 Stunden bieten die Messergebnisse ein relativ einheitliches Bild. Zu diesem Zeitpunkt lagen die Anteile vorwärtsbeweglicher Spermien zwischen 47 und 48 % und unterschieden sich nur minimal von der Kontrolle. In den folgenden 10 Stunden reduzierten sich die Werte nur wenig, um dann im letzten Intervall noch einmal deutlich abzunehmen. Entsprechend war der Einfluss des Faktors Zeit statistisch signifikant ( $p < 0,0001$ ), signifikante Wechselwirkungen zu den Konzentrationen gab es keine ( $p = 0,20$ ).

Es fällt auf, dass in der allgemeinen Datenbeschreibung nach 24 Stunden die mittleren Anteile vorwärtsbeweglicher Spermien in jeder Dinoprostkonzentration höher waren als die der Kontrolle. Außerdem lagen in der niedrigen Konzentration die Werte nach 10 und 12 Stunden ebenfalls geringgradig höher.

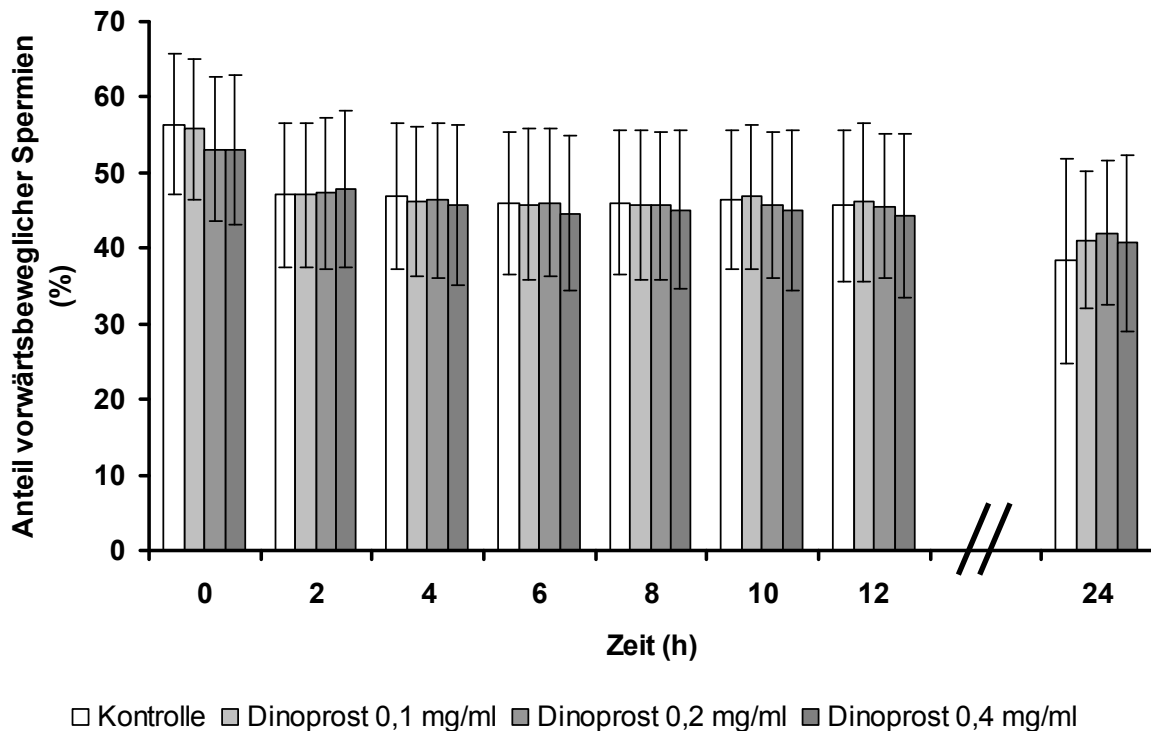


Abbildung 48: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Anteile vorwärtsbeweglicher Spermien (%) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei n = 30 Messwiederholungen)

#### 4.3.2.2 Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien nach Zugabe von Cloprostenol - Racemat

In der Versuchseinheit mit Zugabe des Cloprostenol-Racemats (Abbildung 49) zeigte direkt zu Beginn die Kontrolle die größten Anteile vorwärtsbeweglicher Spermien. Mit mittleren  $57,36 \pm 9,03$  % lag diese jedoch nur knapp über den  $56,39 \pm 9,87$  % vorwärtsbeweglicher Spermien mit Zugabe von  $0,002$  mg/ml Cloprostenol-Racemat. Mit Zugabe der doppelten und vierfachen Menge an Cloprostenol waren die Anteile geringer. Sie lagen mit  $0,004$  mg/ml zu Beginn bei  $55,09 \pm 9,85$  % und mit  $0,008$  mg/ml Racemat bei  $54,18 \pm 10,01$  %. Der Einfluss der eingesetzten Cloprostenolkonzentrationen war sowohl global ( $p = 0,0021$ ) als auch zu dem Zeitpunkt 0 ( $p = 0,0009$ ) statistisch signifikant.

Im SNK-Test ergaben sich zum Zeitpunkt 0 Unterschiede zwischen der hohen Konzentration und der Kontrolle ( $p < 0,01$ ), aber auch zwischen der mittleren

Konzentration und der Kontrolle ( $p < 0,05$ ) und der hohen und der niedrigen Konzentration ( $p < 0,05$ ).

Nach 2 Stunden Lagerzeit war kein signifikanter Einfluss der Wirkstoffkonzentrationen mehr nachweisbar ( $p = 0,28$ ). Allerdings zeigt die allgemeine Datenbeschreibung, dass in der hohen Konzentration in den Analysen nach 10 Stunden Lagerzeit der Rückgang der Vorwärtsbeweglichkeit deutlich größer war als in den übrigen Konzentrationen. Dieser Trend setzte sich nach 12 und 24 Stunden fort.

Die vierfaktorielle Varianzanalyse konnte statistisch signifikante Wechselwirkungen zwischen den Faktoren Zeit und Konzentration feststellen ( $p = 0,018$ ). Der Einfluss des Faktors Zeit war ebenfalls statistisch signifikant ( $p < 0,0001$ ).

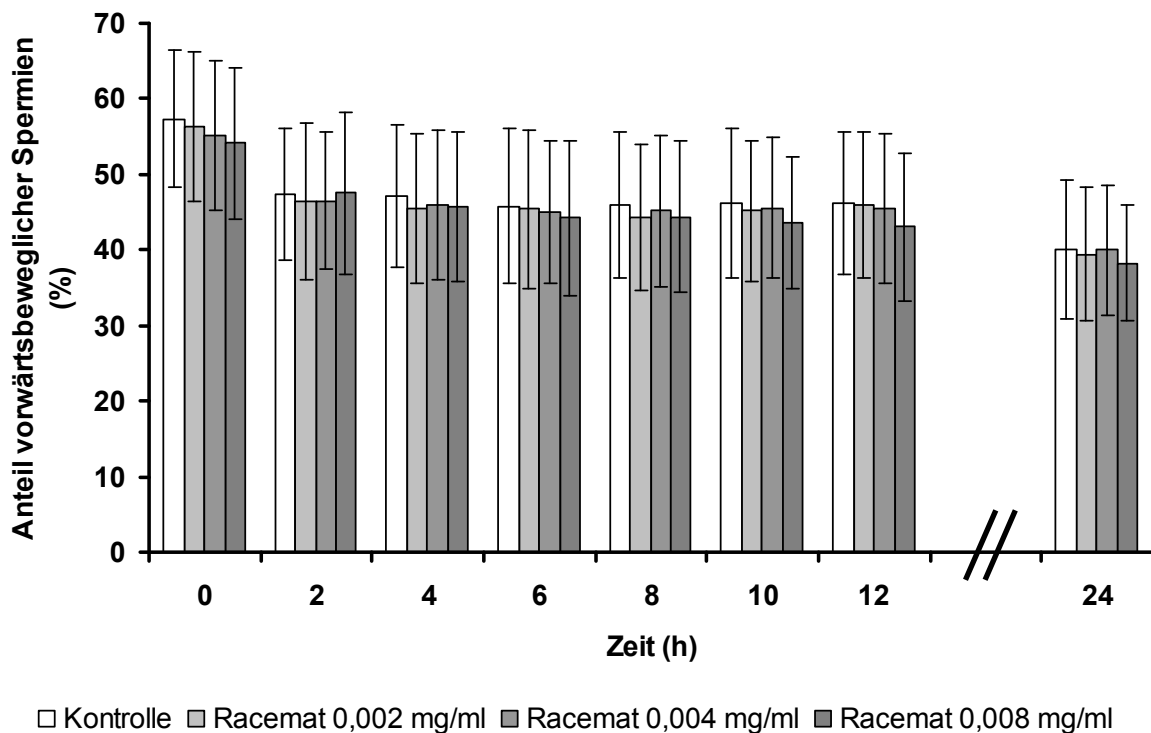


Abbildung 49: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Anteile vorwärtsbeweglicher Spermien (%) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol - Racemat und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei  $n = 30$  Messwiederholungen)



#### **4.3.2.3 Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien nach Zugabe von Cloprostenol - Enantiomer**

Mit der Zugabe der drei Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer (Abbildung 50) lagen die Anteile vorwärtsbeweglicher Spermien an der Gesamtzahl beweglicher Spermien direkt nach dem Auftauen recht einheitlich zwischen 55 und 56 %. Die Kontrolle lag mit  $58,23 \pm 8,42$  % etwas höher. Entsprechend war der Einfluss der Konzentration in der dreifaktoriellen hierarchischen Varianzanalyse statistisch signifikant ( $p = 0,019$ ) und im SNK-Test unterschieden sich die Werte aller drei Konzentrationen signifikant von der Kontrolle ( $p < 0,05$ ). Zwischen den drei Konzentrationen gab es keine signifikanten Unterschiede der Vorwärtsbeweglichkeit zum Zeitpunkt 0.

Global ergab sich ebenfalls ein signifikanter Einfluss der Wirkstoffkonzentrationen ( $p = 0,0013$ ). Dieser lag zum Zeitpunkt 2 Stunden nach dem Auftauen allerdings nicht vor ( $p = 0,16$ ).

Im weiteren Versuchsverlauf fielen die Anteile vorwärtsbeweglicher Spermien mit Zugabe des Cloprostenol-Enantiomers vor allem in der hohen Konzentration weiter ab. Die allgemeine Datenbeschreibung zeigte in dieser Konzentration den größten Unterschied zur Kontrolle zu allen folgenden Zeitpunkten. Hieraus ergaben sich die signifikanten Wechselwirkungen der Faktoren Zeit und Konzentration ( $p = 0,017$ ).

Der Faktor Zeit übte ebenfalls einen signifikanten Einfluss aus ( $p < 0,0001$ ).

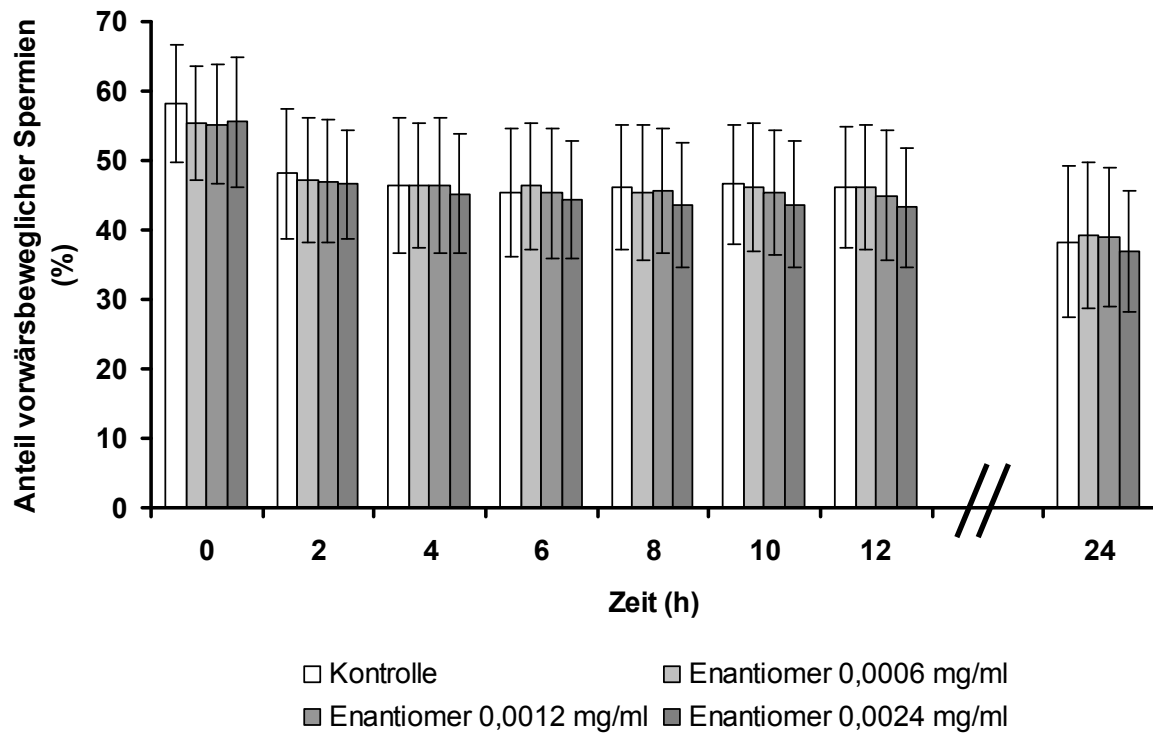


Abbildung 50: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Anteile vorwärtsbeweglicher Spermien (%) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol - Enantiomer und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei n = 30 Messwiederholungen)

### 4.3.3 Tatsächlich zurückgelegter Weg (DCL)

Die Längen des tatsächlich zurückgelegten Weges sind als arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung in Tabelle 32 in Anhang 2 aufgeführt. Außerdem stellen die Abbildungen 51 bis 53 die Ergebnisse in Form von Balkendiagrammen dar.

#### 4.3.3.1 DCL nach Zugabe von Dinoprost

Mit  $52,00 \pm 3,36 \mu\text{m}$  direkt nach dem Auftauen legten die Spermien der Kontrolle den vergleichsweise kürzesten tatsächlichen Weg zurück. Die Spermien in den drei untersuchten Konzentrationen Dinoprost (Abbildung 51) wiesen zu diesem Zeitpunkt eine mittlere Länge des tatsächlich zurückgelegten Weges von  $53,78 \pm 3,23 \mu\text{m}$  in der niedrigen, von  $55,84 \pm 3,52 \mu\text{m}$  in der mittleren und von  $56,79 \pm 2,42 \mu\text{m}$  in der hohen Konzentration Dinoprost auf. Dieser Einfluss der zugegebenen Konzentration zum Zeitpunkt 0 war statistisch signifikant ( $p < 0,0001$ ). Im SNK-Test unterschieden sich die Wege in allen eingesetzten Konzentrationen signifikant von denen der Kontrolle und untereinander ( $p < 0,01$ ). Lediglich die Differenz zwischen der Weglänge in der mittleren und der hohen Konzentration war nicht signifikant zum Zeitpunkt 0.

Zum Zeitpunkt 2 Stunden nach dem Auftauen war der Konzentrationseinfluss ebenfalls statistisch signifikant ( $p < 0,0001$ ) und im SNK-Test waren die Differenzen zwischen den mittleren Weglängen in allen drei Konzentrationen und der Kontrolle signifikant ( $p < 0,05$ ).

Global lagen alle arithmetischen Mittelwerte der Proben mit Zusatz von Prostaglandin höher als die der jeweiligen Kontrolle. Entsprechend ergab die vierfaktorielle hierarchische Varianzanalyse einen signifikanten Einfluss der eingesetzten Dinoprostkonzentrationen auf die tatsächliche Weglänge ( $p = 0,0028$ ).

Hinzu kam, dass im Laufe der Versuchsdauer die Längen des tatsächlich zurückgelegten Weges immer größer wurden. Entsprechend war der Einfluss des Faktors Zeit signifikant ( $p < 0,0001$ ). In der Kontrolle und den beiden niedrigeren Konzentrationen Dinoprost erreichten sie ihr Maximum 10 bzw. 8 Stunden nach dem Auftauen, in der hohen bereits nach 2 Stunden, um dann in den folgenden Analysen wieder abzufallen. Hieraus ergeben sich zusätzlich die signifikanten Wechselwirkungen der Faktoren Zeit und Konzentration in der vierfaktoriellen Varianzanalyse ( $p < 0,0001$ ).

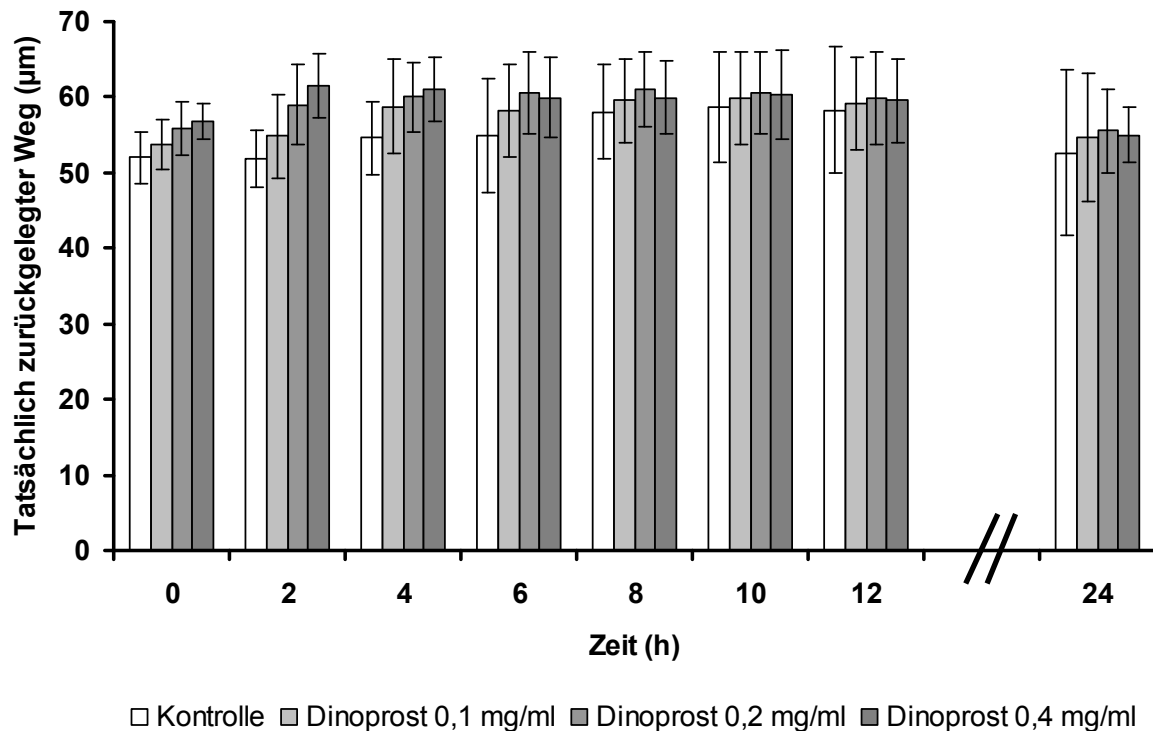


Abbildung 51: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung des Tatsächlich zurückgelegten Weges ( $\mu\text{m}$ ) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei  $n = 30$  Messwiederholungen)

#### 4.3.3.2 DCL nach Zugabe von Cloprostenol-Racemat

Die Kontrolle startete bei  $51,54 \pm 3,22 \mu\text{m}$ , hatte ihr Maximum nach 10 Stunden Lagerzeit und fiel auf  $53,77 \pm 9,62 \mu\text{m}$  nach 24 Stunden ab. Zu den ersten drei Analysezeitpunkten nach 0, 2 und 4 Stunden lagen die Werte mit  $\text{PGF}_{2\alpha}$  über denen der Kontrolle. Nach 6 Stunden unterschieden sie sich in allen drei Konzentrationen nur noch unwesentlich von der Kontrolle. Mit  $0,008 \text{ mg/ml}$  Cloprostenol-Racemat (Abbildung 52) reduzierte sich der tatsächlich zurückgelegte Weg die folgenden Analysen weiter, so dass mit  $52,83 \pm 7,59 \mu\text{m}$  nach 24 Stunden hier die Spermien die kürzesten mittleren Weglängen aufwiesen.

Aus dieser Entwicklung der mittleren tatsächlichen Weglängen nach Racematzugabe über die gesamte Versuchsdauer, ergaben sich die statistisch signifikanten Wechselwirkungen der Faktoren Zeit und Konzentration ( $p < 0,0001$ ). Die fehlende Signifikanz bei dem Einfluss der eingesetzten Konzentrationen ( $p = 0,060$ ) bleibt ohne Bedeutung. Der Faktor Zeit übte ebenfalls einen statistisch signifikanten Einfluss aus ( $p < 0,0001$ ).

Zum Zeitpunkt 0 war der Einfluss des zugegebenen Racemates signifikant ( $p < 0,0001$ ). Im SNK-Test waren die Differenzen der Weglängen außer zwischen der mittleren und der hohen Konzentration immer statistisch signifikant ( $p < 0,05$ ).

Zum Zeitpunkt 2 Stunden nach dem Auftauen ergab sich ein ähnliches Bild. Der Racemateinfluss war statistisch signifikant ( $p < 0,0001$ ). Die Weglängen unterschieden sich dem SNK-Test zufolge ebenfalls in fast allen Konzentrationen signifikant ( $p < 0,05$ ). Lediglich der Unterschied in der tatsächlichen Weglänge zwischen der Kontrolle und der niedrigen Konzentration war nicht signifikant.

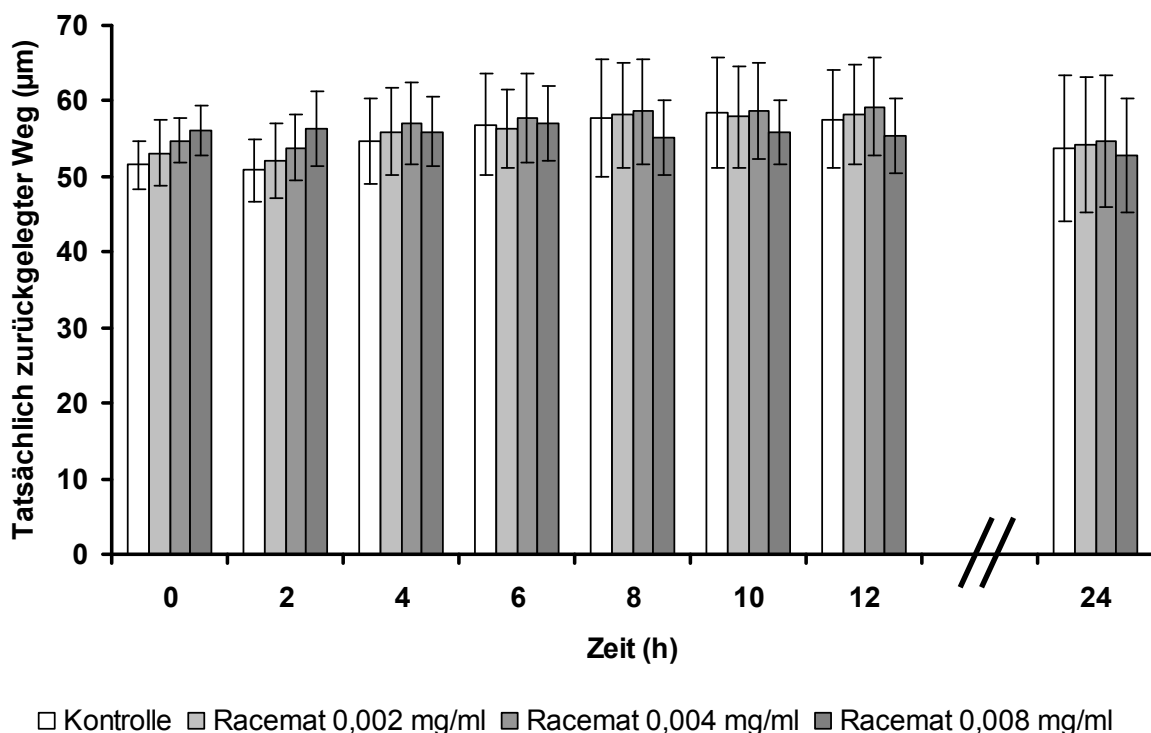


Abbildung 52: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung des Tatsächlich zurückgelegten Weges ( $\mu\text{m}$ ) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei  $n = 30$  Messwiederholungen)

#### 4.3.3.3 DCL nach Zugabe von Cloprostenol-Enantiomer

Nach Zugabe des Enantiomers (Abbildung 53) waren die Weglängen nach 0, 2 und 4 Stunden ebenfalls größer als in der Kontrolle. Zu den restlichen Zeitpunkten wurden die Differenzen kleiner. Nur in der hohen Konzentration Cloprostenol kam es zum Rückgang der Weglängen, so dass nach 24 Stunden Lagerzeit die Spermien in 0,0024 mg/ml Cloprostenol-Enantiomer den insgesamt kürzesten Weg zurücklegten.

Dies führte zu signifikanten Wechselwirkungen der Faktoren Zeit und Konzentration in der vierfaktoriellen hierarchischen Varianzanalyse ( $p < 0,0001$ ). Die fehlende Signifikanz bei dem Einfluss des Faktors Konzentration bleibt ohne Bedeutung ( $p = 0,12$ ). Der Einfluss der Zeit war ebenfalls statistisch signifikant ( $p < 0,0001$ ).

Zum Zeitpunkt 0 übten die eingesetzten Enantiomerkonzentrationen einen signifikanten Einfluss auf die zurückgelegte tatsächliche Weglänge der Spermien aus ( $p < 0,0001$ ). Im SNK-Test waren die Differenzen stets signifikant ( $p < 0,05$ ), lediglich die Weglängen in der niedrigen und der mittleren Konzentration unterschieden sich nicht signifikant.

Zwei Stunden später ergab sich ein ähnliches Bild. Der Einfluss des Enantiomers war statistisch signifikant ( $p < 0,0001$ ) und die Mittelwerte der tatsächlich zurückgelegten Weglängen unterschieden sich im SNK-Test fast alle signifikant ( $p < 0,05$ ). Einzig die Differenz der Weglängen in der mittleren und der hohen Konzentration war nicht signifikant.

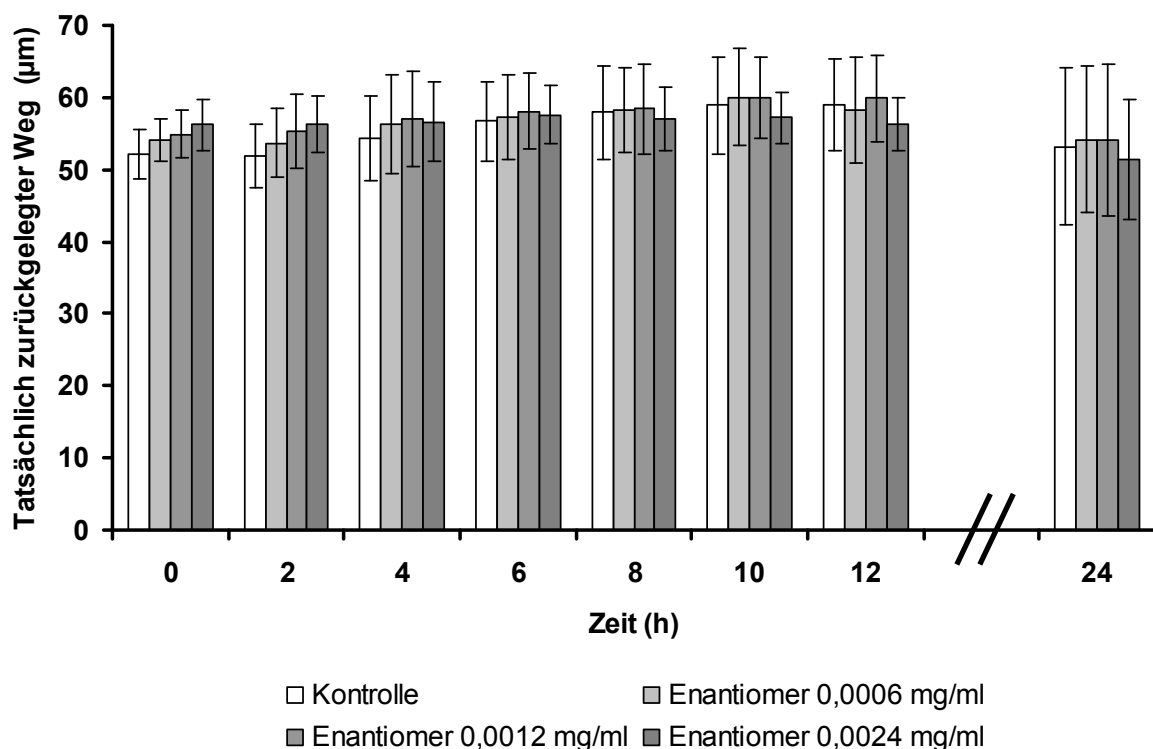


Abbildung 53: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung des Tatsächlich zurückgelegten Weges ( $\mu\text{m}$ ) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei  $n = 30$  Messwiederholungen)

#### 4.3.4 Länge einer geglätteten Linie (DAP)

Die Ergebnisse für die Länge einer geglätteten Linie sind in Form der arithmetischen Mittelwerte zusammen mit der Standardabweichung in Tabelle 33 in Anhang 2 aufgeführt. Außerdem werden die Verläufe der Werte über die Zeit in den Abbildungen 54 bis 56 als Balkendiagramme dargestellt.

##### 4.3.4.1 DAP nach Zugabe von Dinoprost

Nach Zugabe des natürlichen Prostaglandins (Abbildung 54) lagen die Mittelwerte direkt nach dem Auftauen in der Kontrolle und den beiden niedrigen Konzentrationen bei ca. 30  $\mu\text{m}$ . In der höchsten Konzentration war die Länge einer geglätteten Linie kleiner ( $29,15 \pm 1,37 \mu\text{m}$ ). Im Gegensatz zum tatsächlich zurückgelegten Weg kam es hier nicht zu einer Zunahme im Laufe der Versuchsdauer. In der Kontrolle reduzierten sich die Längen der geglätteten Linie nur unwesentlich in den ersten 12 Stunden, ebenso mit 0,1 mg/ml Dinoprost. In beiden Fällen reduzierten sich dann die Längen wieder deutlich im letzten Intervall. Die Spermien in der mittleren Konzentration lagen mit  $30,02 \pm 2,24 \mu\text{m}$  nach 2 Stunden etwas über und nach 10 und 12 Stunden etwas unter den Werten der Kontrolle.

In der hohen Konzentration (0,4 mg/ml) war die Länge der geglätteten Linie während der gesamten Versuchsdauer kleiner als in der Kontrolle. So lagen hier die Werte nach 6 Stunden bei  $27,90 \pm 1,85 \mu\text{m}$ , nach 10 Stunden bei  $27,86 \pm 1,89 \mu\text{m}$  und auch nach 12 Stunden zeigten die Spermien in 0,4 mg/ml Dinoprost die kleinsten Werte mit mittleren  $27,69 \pm 1,84 \mu\text{m}$ . Bei der letzten Analyse nach 24 Stunden waren die Mittelwerte in allen vier Konzentrationen jedoch wieder sehr ähnlich und nur in den beiden niedrigen Konzentrationen etwas höher als die Kontrolle.

Der Einfluss der Wirkstoffkonzentration war in der vierfaktoriellen hierarchischen Varianzanalyse statistisch signifikant ( $p = 0,034$ ). Außerdem übte der Faktor Zeit einen statistisch hoch signifikanten Einfluss aus ( $p < 0,0001$ ). Signifikante Wechselwirkungen zwischen den beiden genannten Faktoren gab es keine ( $p = 0,30$ ).

Die dreifaktorielle Varianzanalyse ergab einen signifikanten Einfluss der eingesetzten Dinoprostmenge auf den Parameter DAP zum Zeitpunkt 0 ( $p = 0,0029$ ) und im SNK-Test wurde deutlich, dass sich die Länge einer geglätteten Linie in der höchsten Konzentration signifikant von allen drei anderen Mittelwerten signifikant unterschied

( $p < 0,01$ ). Zwischen den Konzentrationen 0; 0,1 und 0,2 mg Dinoprost pro ml ergaben sich direkt nach dem Auftauen keine Unterschiede.

Zwei Stunden später konnte kein signifikanter Einfluss der eingesetzten Wirkstoffkonzentrationen festgestellt werden ( $p = 0,12$ ).

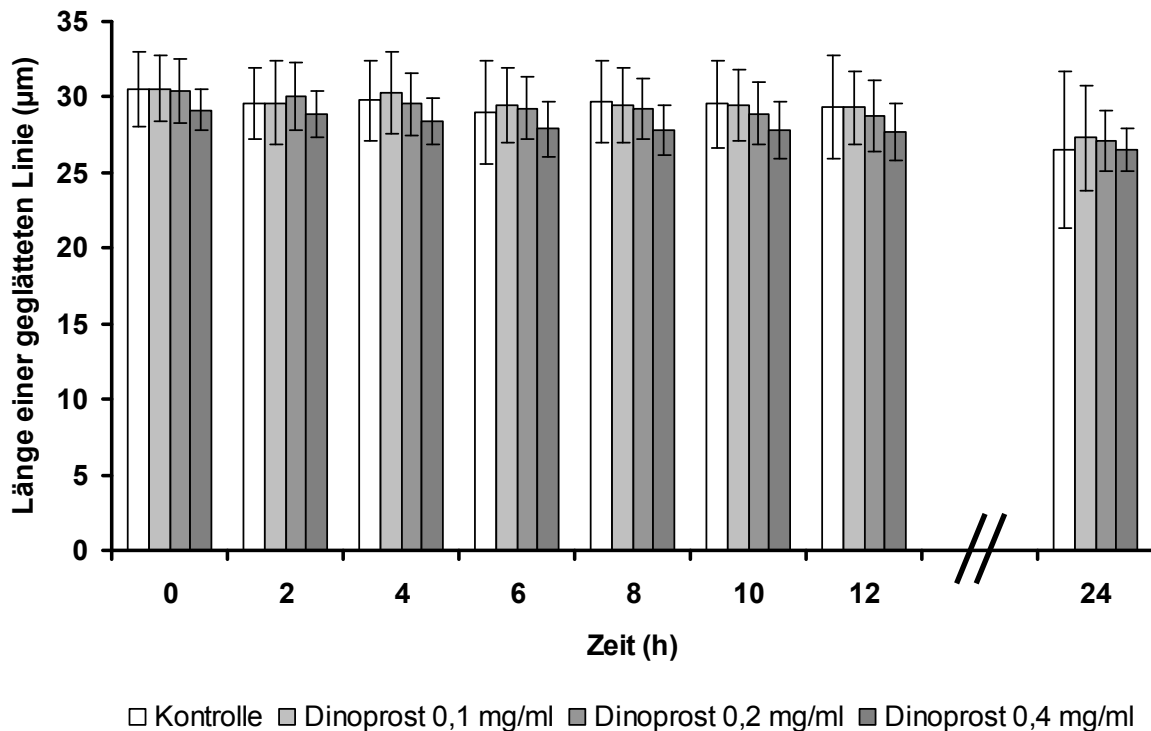


Abbildung 54: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Länge einer geglätteten Linie ( $\mu\text{m}$ ) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei  $n = 30$  Messwiederholungen)

#### 4.3.4.2 DAP nach Zugabe von Cloprostenol-Racemat

Zu Beginn lagen die Mittelwerte mit Zugabe von Cloprostenol-Racemat (Abbildung 55) höher als die der Kontrolle. Dies war direkt nach dem Auftauen, 2 und 4 Stunden später der Fall. Zum Analysezeitpunkt 4 Stunden nach dem Auftauen begannen jedoch die Werte in der hohen Konzentration bereits unter die der Kontrolle abzufallen. Bei den restlichen Analysen lagen die Werte in der hohen Konzentration immer unter denen der Kontrolle. In den beiden niedrigen Konzentrationen wiesen sie kaum einen Unterschied auf. Erst nach 24 Stunden Lagerzeit war zwischen der Kontrolle und der hohen Konzentration kaum noch ein Unterschied vorhanden und



die Spermien in den beiden niedrigen Konzentrationen legten eine etwas größere geglättete Linie zurück als die Kontrolle.

Insgesamt reduzierten sich wie bereits mit dem natürlichen Prostaglandin die Werte der Längen einer geglätteten Linie mit dem Racemat des Cloprostenols, so dass der Einfluss des Faktors Zeit hoch signifikant war ( $p = 0,0001$ ). Die globale Varianzanalyse zeigte außerdem einen statistisch signifikanten Einfluss der Wirkstoffkonzentration ( $p = 0,011$ ). Die Wechselwirkungen zwischen den Faktoren Zeit und Konzentration waren ebenfalls statistisch signifikant ( $p = 0,0083$ ).

Zu den Zeitpunkten 0 ( $p = 0,24$ ) und 2 ( $p = 0,52$ ) waren keine signifikanten Unterschiede nachweisbar. Aus der allgemeinen Datenbeschreibung lässt sich jedoch entnehmen, dass in der hohen Racematkonzentration die Mittelwerte zu den folgenden fünf Analysezeitpunkten niedriger lagen als die der Kontrolle und der niedrigeren Konzentrationen.

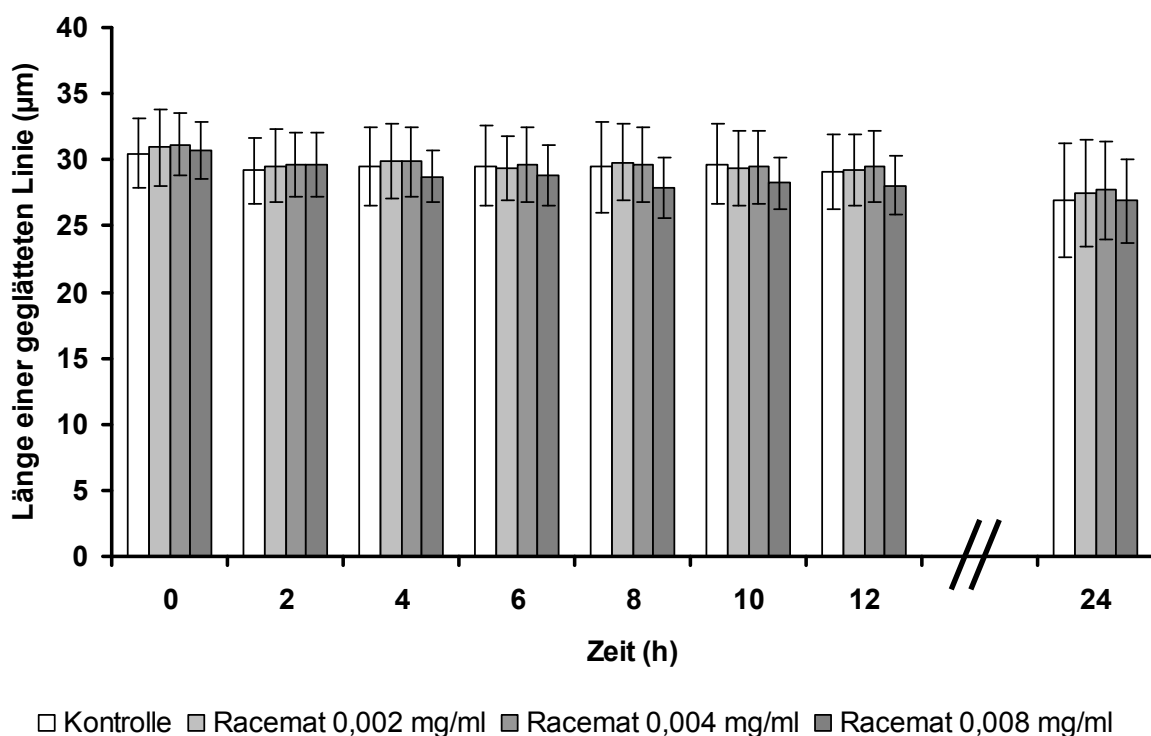


Abbildung 55: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Länge einer geglätteten Linie ( $\mu\text{m}$ ) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei  $n = 30$  Messwiederholungen)

#### 4.3.4.3 DAP nach Zugabe von Cloprostenol-Enantiomer

Direkt nach dem Auftauen waren die Werte mit Zusatz des Cloprostenol-Enantiomers (Abbildung 56) etwas höher als die der Kontrolle. Mit 0,0006 mg/ml und 0,0012 mg/ml setzte sich dieser Trend über annähernd die gesamte Versuchsdauer fort. Jedoch mit 0,0024 mg/ml fiel der Mittelwert bereits 2 Stunden nach dem Auftauen unter den der Kontrolle. In den folgenden Analysen fielen die Mittelwerte mit 0,0024 mg/ml Enantiomer stärker als mit weniger Cloprostenolzusatz ab. Nach 24 Stunden Versuchsdauer war der Mittelwert der Spermien in der höchsten Konzentration der kleinste.

Der Einfluss der eingesetzten Konzentrationen war statistisch signifikant ( $p = 0,013$ ), ebenso der des Faktors Zeit ( $p < 0,0001$ ). Signifikante Wechselwirkungen zwischen den beiden genannten Faktoren gab es keine ( $p = 0,23$ ).

Die dreifaktorielle Varianzanalyse ergab keine Unterschiede zu den Zeitpunkten 0 ( $p = 0,16$ ) und 2 ( $p = 0,25$ ) Stunden nach dem Auftauen. Die allgemeine Datenbeschreibung lässt lediglich vermuten, dass der global signifikante Einfluss der eingesetzten Konzentrationen durch die Unterschiede zwischen den Kontrollen und den Werten der hohen Enantiomerkonzentration zu späteren Zeitpunkten zustande kam.

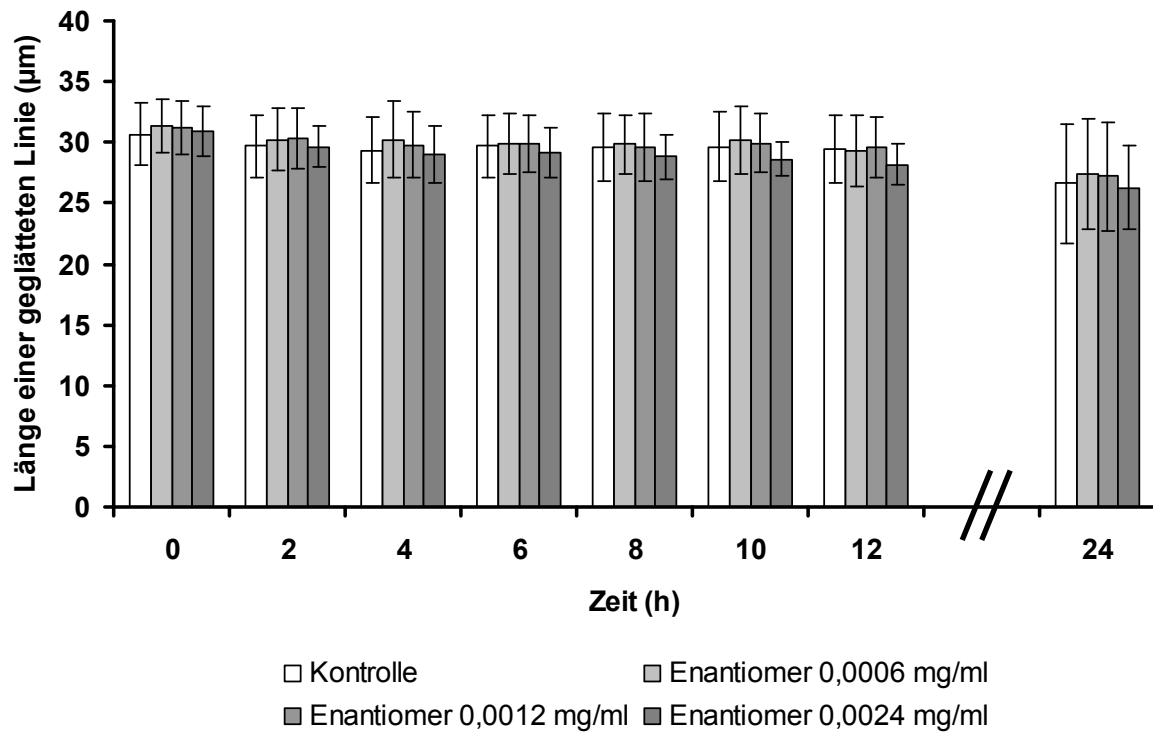


Abbildung 56: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Länge einer geglätteten Linie ( $\mu\text{m}$ ) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei  $n = 30$  Messwiederholungen)

#### 4.3.5 Strecke zwischen Start- und Endpunkt (DSL)

Die Strecken zwischen Start- und Endpunkt ( $\mu\text{m}$ ) sind in Tabelle 34 in Anhang 2 für jedes Prostaglandinpräparat aufgeführt. Angegeben sind die arithmetischen Mittelwerte aus den 30 Durchgängen in Verbindung mit der Standardabweichung. Außerdem werden diese nachfolgend getrennt nach Präparat zusammen mit der dazugehörigen Kontrolle in den Abbildungen 57 bis 59 dargestellt.

##### 4.3.5.1 DSL nach Zugabe von Dinoprost

Die Zugabe von Dinoprost (Abbildung 57) hatte keine Steigerung der zurückgelegten Strecken zwischen Start- und Endpunkt zur Folge. Bereits direkt nach dem Auftauen waren die Werte vor allem in den hohen Konzentrationen wesentlich kleiner als in der Kontrolle. Dies war über die gesamte Versuchsdauer der Fall. Am größten war der Unterschied zwischen Kontrolle und der hohen Konzentration zum Zeitpunkt 8 Stunden nach dem Auftauen.

Mit der mittleren Konzentration Dinoprost war der Verlauf sehr ähnlich, die Unterschiede jedoch nicht ganz so groß. Acht Stunden nach dem Auftauen war der Unterschied am größten und die Werte mit 0,2 mg/ml Dinoprost waren durchweg kleiner als in der Kontrolle.

Diese Unterschiede stellten sich als Folge des statistisch hoch signifikanten Einflusses der eingesetzten Prostaglandinkonzentrationen auf die Strecke zwischen Start- und Endpunkt in der Varianzanalyse dar ( $p < 0,0001$ ). Der Faktor Zeit hatte einen entsprechenden Einfluss auf die Entwicklung der Streckenlänge ( $p < 0,0001$ ). Zusätzlich waren die Wechselwirkungen zwischen den Faktoren Zeit und Konzentration statistisch signifikant ( $p = 0,0027$ ).

Zu den Zeitpunkten 0 und 2 war in der dreifaktoriellen Varianzanalyse der Konzentrationseinfluss ebenfalls statistisch signifikant ( $p < 0,0001$ ). Allerdings zeigte der SNK-Test, dass sich zu diesen beiden Zeitpunkten nur die Werte der höchsten Konzentration von allen anderen signifikant unterschieden ( $p < 0,01$ ). Die Differenzen zwischen den Werten der übrigen drei Konzentrationen (0; 0,1 und 0,2 mg/ml) waren zu den Zeitpunkten 0 und 2 nicht signifikant.

Aus der allgemeinen Datenbeschreibung lässt sich entnehmen, dass die kleinste eingesetzte Dinoprostkonzentration (0,1 mg/ml) im Vergleich zur Kontrolle während den ersten 12 Stunden Lagerzeit keinen Unterschied in der Streckenlänge bewirken konnte. Die Werte entsprechen im Wesentlichen denen der Kontrolle.

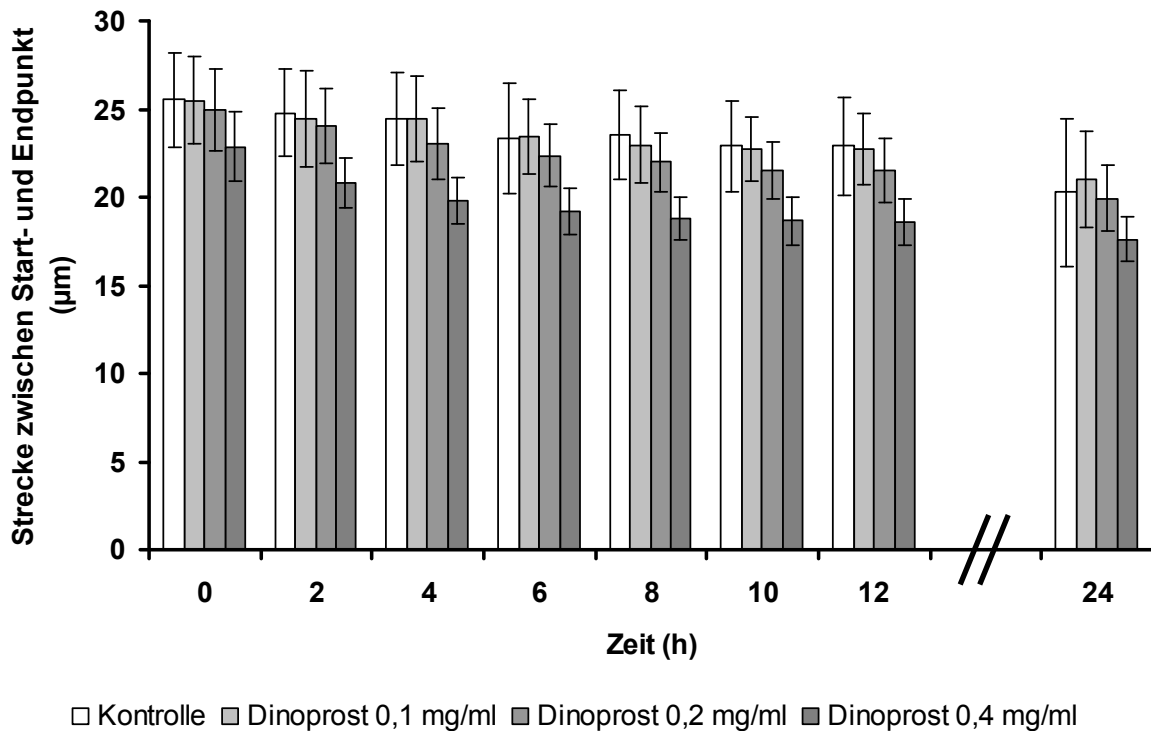


Abbildung 57: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Strecke zwischen Start- und Endpunkt ( $\mu\text{m}$ ) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei  $n = 30$  Messwiederholungen)

#### 4.3.5.2 DSL nach Zugabe von Cloprostenol-Racemat

Wie mit dem natürlichen  $\text{PGF}_{2\alpha}$  verhielt sich auch die Strecke zwischen Start- und Endpunkt in der hohen Konzentration mit Cloprostenol-Racemat (Abbildung 58). Die Werte lagen durchweg tiefer, nur die Differenz war kleiner. Außerdem glichen sie sich zum letzten Analysenzeitpunkt aneinander an.

Entsprechend konnte in der vierfaktoriellen hierarchischen Varianzanalyse ein statistisch signifikanter Einfluss der Konzentration des Cloprostenol-Racemats ( $p = 0,0001$ ) und des Faktors Zeit ( $p < 0,0001$ ) auf die Strecke zwischen Start- und Endpunkt nachgewiesen werden. Die Wechselwirkungen zwischen den beiden Faktoren waren ebenfalls signifikant ( $p = 0,027$ ).

Mit dem Racemat des Cloprostenols konnte zwar im Vergleich zur Kontrolle in den beiden niedrigeren Konzentrationen eine Steigerung der zurückgelegten Strecke zu den ersten drei Analysezeitpunkten erreicht werden, allerdings war dieser Unterschied zum Zeitpunkt 0 im SNK-Test nicht signifikant. Der signifikante Einfluss

zum Zeitpunkt 0 ( $p = 0,037$ ) ergab sich vielmehr aus den Differenzen zwischen den Werten der hohen und den beiden niedrigeren Konzentrationen Racemat ( $p < 0,05$ ). Ansonsten war kein Unterschied signifikant.

Zum Zeitpunkt 2 ergab die dreifaktorielle Varianzanalyse keinen Einfluss der Wirkstoffkonzentrationen ( $p = 0,068$ ). Während der folgenden Analysen, so zeigt die allgemeine Datenbeschreibung, wurde vor allem in der hohen Konzentration Cloprostenol-Racemat die Strecke zwischen Start- und Endpunkt reduziert.

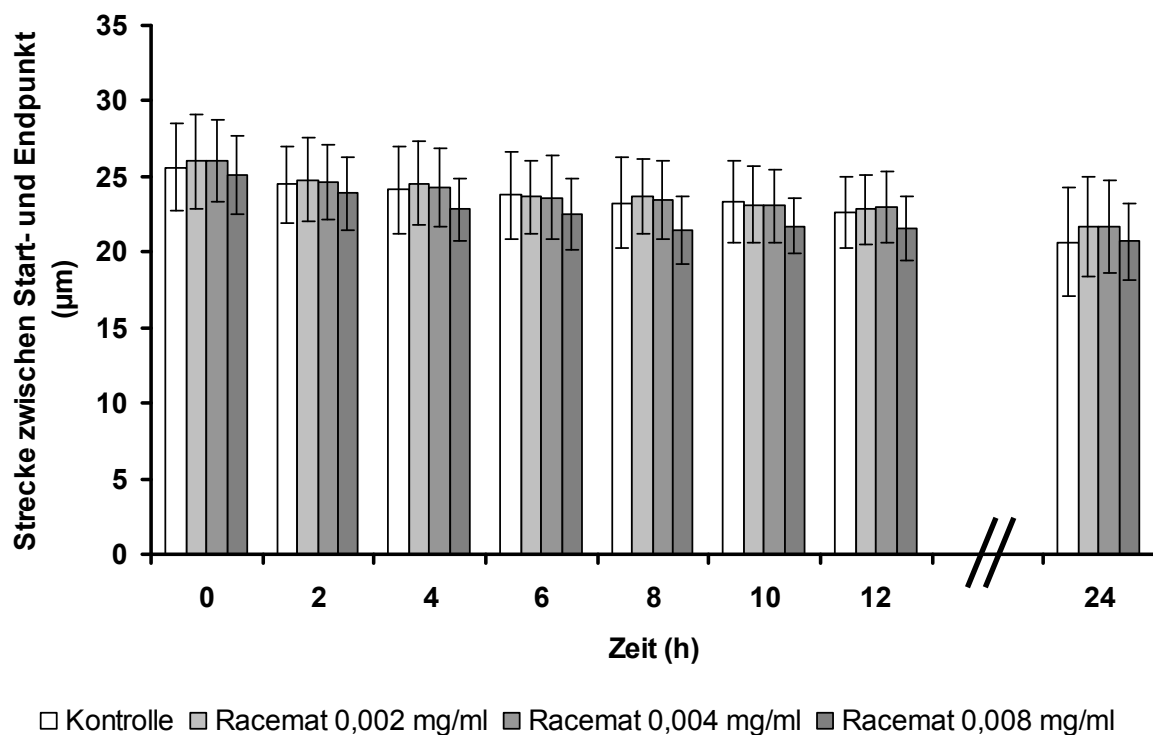


Abbildung 58: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Strecke zwischen Start- und Endpunkt ( $\mu\text{m}$ ) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei  $n = 30$  Messwiederholungen)

#### 4.3.5.3 DSL nach Zugabe von Cloprostenol-Enantiomer

Der Verlauf der Streckenentwicklung während des Versuches wies mit dem Enantiomer Parallelen auf zum Verlauf mit dem Racemat. Deutlich im Balkendiagramm (Abbildung 59) zu sehen ist, dass die beiden niedrigeren Konzentrationen durchweg eine größere zurückgelegte Strecke zwischen Start- und Endpunkt hervorriefen. Diese Unterschiede waren jedoch weder zum Zeitpunkt 0 noch 2 statistisch signifikant.

Erneut kürzere Strecken legten die Spermien in der hohen Konzentration Cloprostenol im Vergleich zu der Kontrolle zurück. Zum Zeitpunkt 2 war der Einfluss des Enantiomers entsprechend signifikant ( $p = 0,0052$ ). Die Werte in der hohen Konzentration unterschieden sich im SNK-Test von den drei anderen (0; 0,0006 und 0,0012 mg/ml) signifikant ( $p < 0,05$ ).

Zu den Zeitpunkten 0 und 24 waren die arithmetischen Mittelwerte in der Kontrolle und mit 0,0024 mg/ml Cloprostenol-Enantiomer annähernd gleich groß. Entsprechend ergab die dreifaktorielle Varianzanalyse zum Zeitpunkt 0 keinen Wirkstoffeinfluss ( $p = 0,070$ ).

In der globalen vierfaktoriellen hierarchischen Varianzanalyse hatten die eingesetzten Konzentrationen des Enantiomers einen statistisch signifikanten Einfluss auf die Länge der Strecke zwischen Start- und Endpunkt ( $p = 0,0001$ ), ebenso der Faktor Zeit ( $p < 0,0001$ ). Aus der allgemeinen Datenbeschreibung lässt sich entnehmen, dass dieser Einfluss vor allem aufgrund der Unterschiede zwischen der hohen Konzentration und der Kontrolle zu späteren Zeitpunkten zustande gekommen sein muss. Signifikante Wechselwirkungen zwischen den Faktoren Zeit und Konzentration gab es keine ( $p = 0,72$ ).

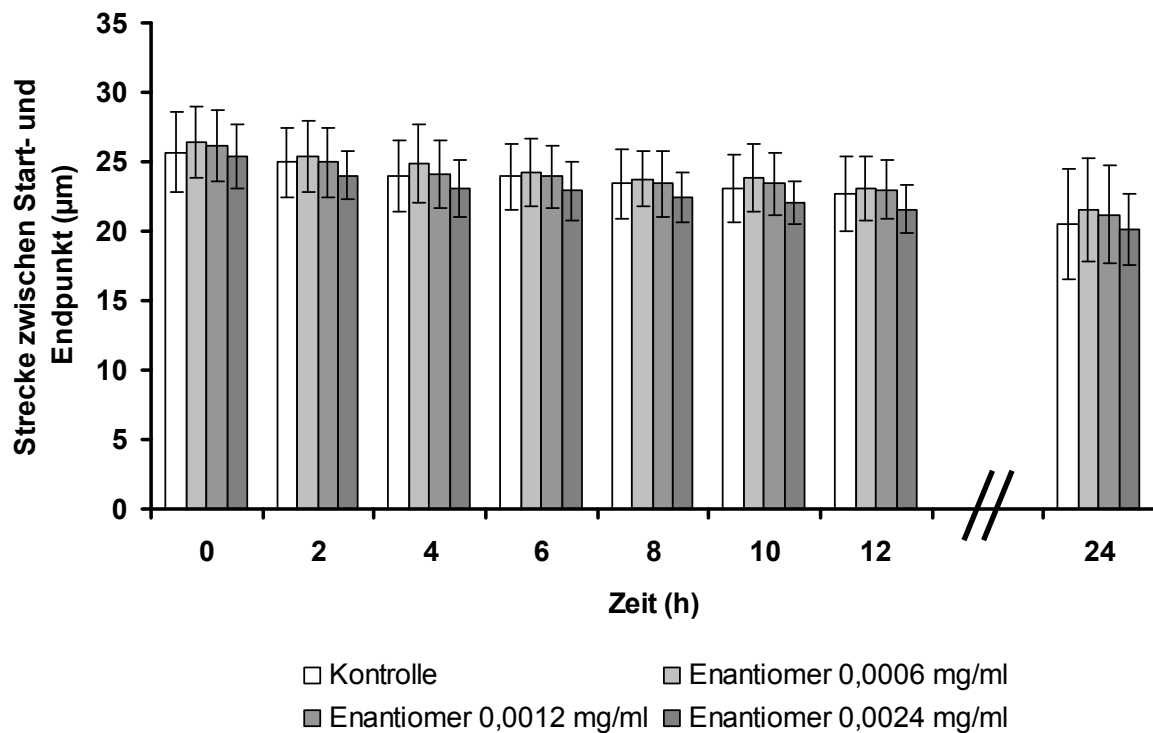


Abbildung 59: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Strecke zwischen Start- und Endpunkt ( $\mu\text{m}$ ) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenoil-Enantiomer und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei  $n = 30$  Messwiederholungen)



#### 4.3.6 Kurvilineare Geschwindigkeit (VCL)

Die ermittelten Kurvilinearen Geschwindigkeiten ( $\mu\text{m/s}$ ) sind in Tabelle 35 in Anhang 2 als arithmetische Mittelwerte aus den 30 Durchgängen in Verbindung mit der Standardabweichung aufgeführt. Außerdem werden sie nachfolgend getrennt nach zugegebenen Prostaglandinpräparaten in den Abbildungen 60 bis 62 für jeden Analysezeitpunkt dargestellt.

##### 4.3.6.1 VCL nach Zugabe von Dinoprost

Es fällt auf, dass die Kontrollen im Vergleich zu den Proben mit Dinoprost in jeder Konzentration und zu jedem Analysezeitpunkt die geringsten Mittelwerte aufwiesen (Abbildung 60). Hinzu kommt, dass zu den ersten drei Messzeitpunkten außerdem die Proben mit der höchsten Konzentration an Dinoprost (0,4 mg/ml) die größten mittleren Kurvilinearen Geschwindigkeiten zeigten.

Des Weiteren nahmen die Geschwindigkeiten im Laufe der Versuchsdauer weiter zu und erreichten zu unterschiedlichen Zeitpunkten ihr Maximum. Je größer die Konzentration der enthaltenen Prostaglandine war, umso früher war dies der Fall. So lag in der hohen Konzentration bereits nach 2 Stunden das Maximum von  $140,11 \pm 9,16 \mu\text{m/s}$  vor. Die Spermien in der mittleren erreichten  $139,39 \pm 11,16 \mu\text{m/s}$  nach 8 und die Spermien in der niedrigen zum gleichen Zeitpunkt wie die Kontrolle erreichten  $137,77 \pm 14,84 \mu\text{m/s}$  nach 10 Stunden Lagerzeit.

Somit konnte ein statistisch signifikanter Einfluss der eingesetzten Dinoprostkonzentrationen nachgewiesen werden ( $p = 0,023$ ). Der Faktor Zeit beeinflusste die Entwicklung außerdem signifikant ( $p < 0,0001$ ) und signifikante Wechselwirkungen waren ebenfalls vorhanden ( $p < 0,0001$ ).

Die dreifaktorielle Varianzanalyse der Zeitpunkte 0 und 2 ergab zusätzlich einen statistisch hoch signifikanten Einfluss der zugesetzten Dinoprostmengen auf die Kurvilineare Geschwindigkeit ( $p < 0,0001$ ). Der SNK-Tests zeigte einen signifikanten Unterschied zwischen den Werten in den drei verschiedenen Konzentrationen zum Zeitpunkt 2 ( $p < 0,05$ ) und direkt nach dem Auftauen lagen ebenfalls signifikante Unterschiede zwischen fast allen Konzentrationen vor ( $p < 0,01$ ). Lediglich die Differenz zwischen den Werten in der mittleren und der hohen Konzentration war zum Zeitpunkt 0 nicht signifikant.

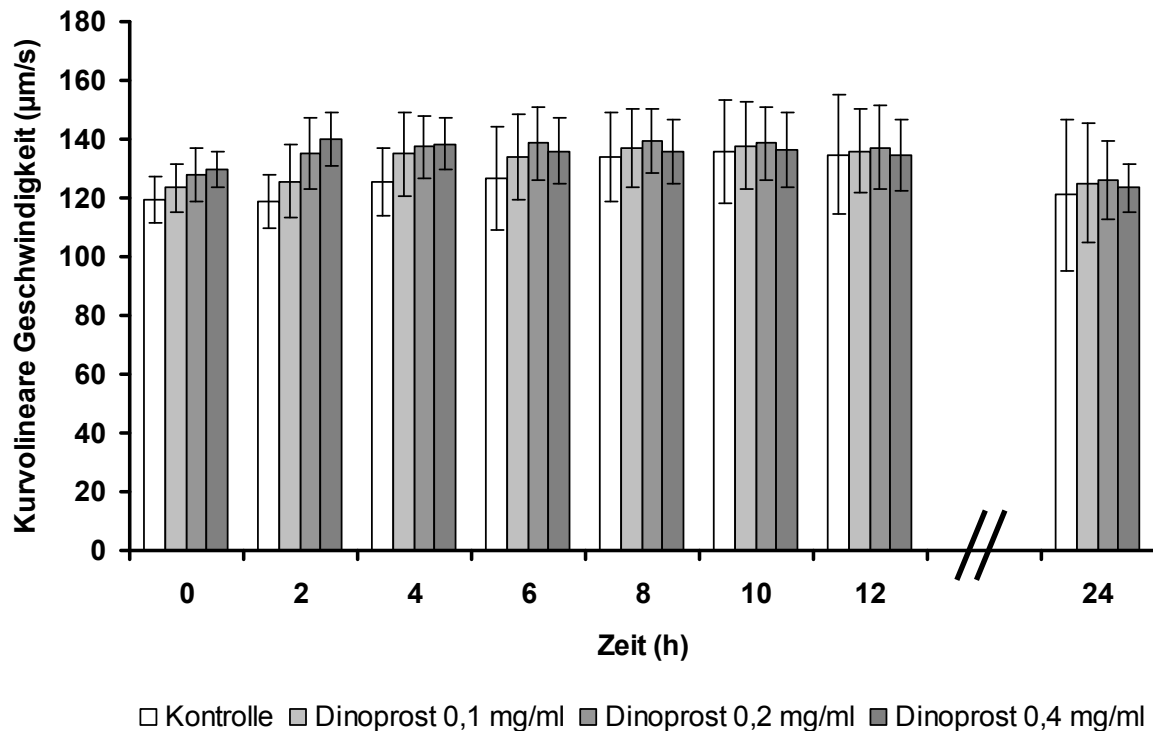


Abbildung 60: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Kurvilinearen Geschwindigkeit ( $\mu\text{m/s}$ ) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei  $n = 30$  Messwiederholungen)

#### 4.3.6.2 VCL nach Zugabe von Cloprostenol-Racemat

Die Kontrolle wies zu den ersten beiden Messzeitpunkten die geringsten Geschwindigkeiten auf und die Proben mit der hohen Konzentration Cloprostenol-Racemat die größten (Abbildung 61). 4 und 6 Stunden nach dem Auftauen zeigten die Geschwindigkeiten der Spermien in allen Konzentrationen recht ähnliche Werte und stiegen weiter an. Allerdings zeigten bereits nach 8 Stunden Lagerzeit die Spermien in der hohen Konzentration Cloprostenol geringere Werte und unterschieden sich doch recht deutlich von den übrigen. Dieser Trend setzte sich die folgenden 3 Analysen weiter fort.

Die Kurvilinearen Geschwindigkeiten reduzierten sich im Laufe der Versuchsdauer vor allem im Intervall vor der Analyse nach 24 Stunden, am deutlichsten in der hohen Konzentration.

Aufgrund der hoch signifikanten Wechselwirkungen zwischen den Faktoren Zeit und Konzentration ( $p < 0,0001$ ), bleibt die Tatsache der fehlenden Signifikanz bei der Analyse des globalen Einflusses der Cloprostenolkonzentrationen auf die

Kurvolineare Geschwindigkeit ( $p = 0,056$ ) ohne Bedeutung. Der Faktor Zeit hatte mit  $p < 0,0001$  einen signifikanten Effekt.

Die dreifaktorielle Varianzanalyse zeigte, dass sowohl zum Zeitpunkt 0 als auch 2 Stunden später die eingesetzte Menge an Cloprostamol-Racemat einen hoch signifikanten Einfluss auf die Kurvilineare Geschwindigkeit hatte ( $p < 0,0001$ ). Die Effekte waren zu den Zeitpunkten 0 und 2 im SNK-Test zwischen den verschiedenen Konzentrationen signifikant unterschiedlich ( $p < 0,05$ ). Lediglich die Werte in der mittleren und hohen Konzentration direkt nach dem Auftauen unterschieden sich nicht signifikant.

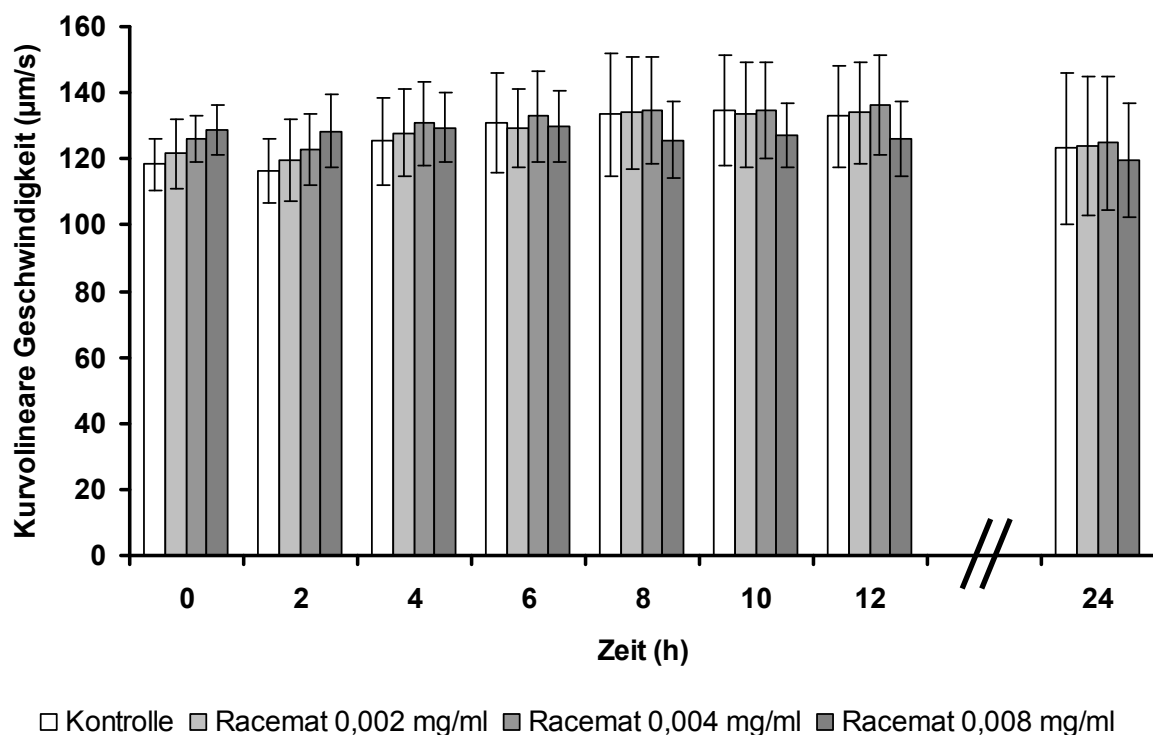


Abbildung 61: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Kurvilinearen Geschwindigkeit ( $\mu\text{m/s}$ ) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostamol-Racemat und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei  $n = 30$  Messwiederholungen)

#### 4.3.6.3 VCL nach Zugabe von Cloprostenol-Enantiomer

Die Ergebnisse nach Zugabe des Enantiomers (Abbildung 62) unterschieden sich nur unwesentlich von denen mit dem Racemat. So zeigten zu den ersten drei Analysezeitpunkten wieder die Spermien der Kontrolle die kleinsten Werte. Die höchsten Kurvilinearen Geschwindigkeiten wiesen zu den Zeitpunkten 0 und 2 die Spermien in der hohen Konzentration Enantiomer auf.

Zum Zeitpunkt 4 Stunden nach Versuchsbeginn waren die mittleren Kurvilinearen Geschwindigkeiten in der mittleren Konzentration höher als in den anderen Konzentrationen. Dies war die darauf folgenden 4 Analysen der Fall. Im gleichen Zeitraum reduzierten sich die Geschwindigkeiten in der hohen Konzentration deutlich. Der Unterschied zur Kontrolle wurde mit jeder Analyse größer.

Insgesamt stiegen die Geschwindigkeiten je nach Konzentration in den ersten 6 bis 12 Stunden an. Anschließend reduzierten sie sich. Nach 24 Stunden waren sie in der Kontrolle und der niedrigen Konzentration wieder auf dem Ausgangsniveau angelangt und in den beiden höheren Konzentrationen lagen sie deutlich darunter.

Aufgrund der signifikanten Wechselwirkungen zwischen den Faktoren Zeit und Konzentration ( $p < 0,0001$ ), bleibt die fehlende Signifikanz beim Effekt der verschiedenen Konzentrationen ( $p = 0,12$ ) ohne Bedeutung. Der Einfluss des Faktors Zeit war hoch signifikant ( $p < 0,0001$ ).

Die dreifaktorielle Varianzanalyse der Ergebnisse zu den Zeitpunkten 0 und 2 ergab einen signifikanten Effekt der eingesetzten Enantiomerkonzentrationen ( $p < 0,0001$ ). Der SNK-Tests zeigte, dass sich direkt nach dem Auftauen die Werte in allen Konzentrationen signifikant voneinander unterschieden ( $p < 0,05$ ), nur nicht die in der niedrigen und der mittleren Konzentration. Zwei Stunden später war zwischen der niedrigen und der mittleren Konzentration ebenfalls kein signifikanter Unterschied vorhanden, ebenso nicht zwischen der mittleren und hohen. Allerdings hatten im Vergleich zur Kontrolle im SNK-Test alle eingesetzten Mengen zu den Zeitpunkten 0 und 2 einen signifikanten Effekt ( $p < 0,05$ ).

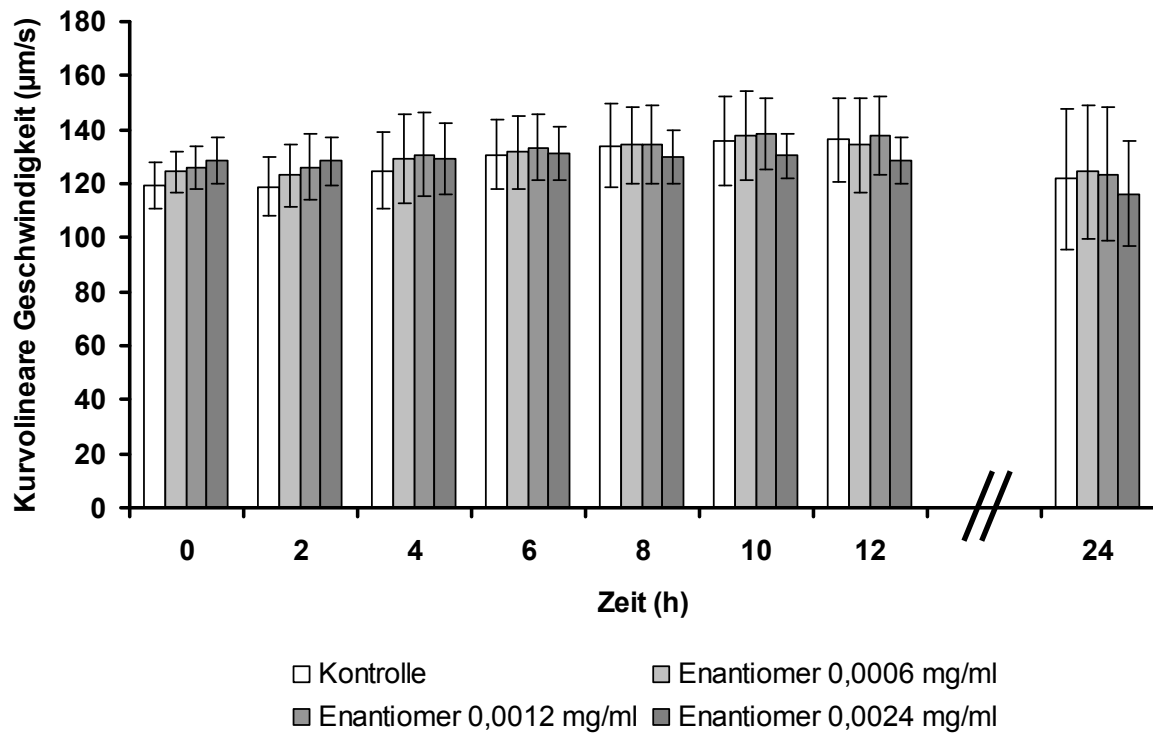


Abbildung 62: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Kurvilinearen Geschwindigkeit ( $\mu\text{m/s}$ ) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostamol-Enantiomer und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei  $n = 30$  Messwiederholungen)

### 4.3.7 Mittlere Geschwindigkeit (VAP)

Die gemessenen Werte der Mittleren Geschwindigkeit sind in Form der arithmetischen Mittelwerte in Verbindung mit der Standardabweichung in Tabelle 36 in Anhang 2 aufgeführt. Außerdem sind diese in den nachfolgenden Abbildungen 63 bis 65 als Balkendiagramme dargestellt.

#### 4.3.7.1 VAP nach Zugabe von Dinoprost

Nach Zugabe des natürlichen Prostaglandins (Abbildung 63) lagen die Mittelwerte der Mittleren Geschwindigkeit der Spermien in der Kontrolle direkt nach dem Auftauen bei  $70,16 \pm 5,64 \mu\text{m/s}$  und somit höher als die der Proben mit Dinoprostzusatz. Nach 2, 4 und 6 Stunden Lagerzeit lagen die Werte dann in 0,1 mg/ml bzw. 0,2 mg/ml Dinoprost höher als in der Kontrolle.

Während der kompletten Versuchsdauer wiesen die Spermien in der hohen Konzentration (0,4 mg/ml) Dinoprost die geringste Mittlere Geschwindigkeit auf. Ab dem Zeitpunkt 8 Stunden nach dem Auftauen zeigten die Spermien in der Kontrolle wieder die größte Mittlere Geschwindigkeit. Nach 24 Stunden waren die Unterschiede weniger deutlich. Im letzten Analysenintervall von 12 Stunden kam es zu einer deutlichen Reduktion der Mittleren Geschwindigkeiten.

Der Unterschied und somit der Einfluss der eingesetzten Dinoprostkonzentrationen war statistisch signifikant ( $p = 0,014$ ), ebenso der Einfluss des Faktors Zeit ( $p < 0,0001$ ). Signifikante Wechselwirkungen zwischen den beiden Faktoren gab es jedoch keine ( $p = 0,11$ ).

Die dreifaktorielle Varianzanalyse ergab, dass Effekte der eingesetzten Konzentrationen zum Zeitpunkt 0 statistisch signifikant ( $p = 0,0010$ ) und zum Zeitpunkt 2 eher zufällig waren ( $p = 0,15$ ). Dabei war die Reduktion der VAP zum Zeitpunkt 0 in der höchsten Konzentration im Vergleich zu den übrigen drei Konzentrationen im SNK-Test statistisch signifikant ( $p < 0,01$ ). Zwischen den restlichen Werten in den übrigen drei Konzentrationen gab es keine signifikanten Unterschiede.

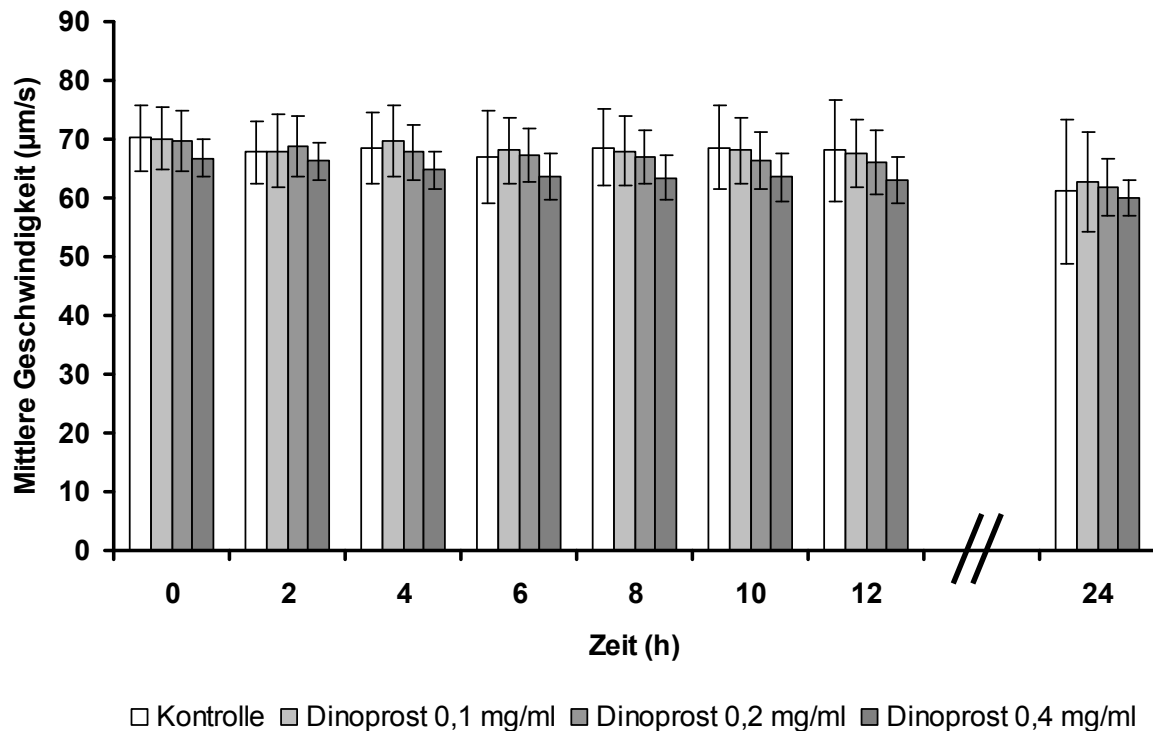


Abbildung 63: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Mittleren Geschwindigkeit ( $\mu\text{m/s}$ ) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei  $n = 30$  Messwiederholungen)

#### 4.3.7.2 VAP nach Zugabe von Cloprostenol-Racemat

Mit Zugabe des Cloprostenol-Racemats (Abbildung 64) lagen direkt nach dem Auftauen alle arithmetischen Mittelwerte der Geschwindigkeiten entlang der geglätteten Linie mit Prostaglandinzugabe über denen der Kontrolle. Dies war 2 Stunden später immer noch der Fall. Allerdings war der Effekt der drei Konzentrationen zu den Zeitpunkten 0 ( $p = 0,24$ ) und 2 ( $p = 0,45$ ) nicht signifikant.

Ab den darauf folgenden Analysen waren wiederum die Werte in der hohen Konzentration die niedrigsten. Dies setzte sich über die restliche Versuchsdauer so fort. Zwischen der Kontrolle und den beiden niedrigen Konzentrationen des Racemats konnte in diesem Zeitraum kein wesentlicher Unterschied mehr festgestellt werden. Deshalb lässt die allgemeine Datenbeschreibung vermuten, dass die signifikanten Effekte der eingesetzten Mengen an Racemat auf die Mittleren Geschwindigkeiten ( $p = 0,0033$ ) vor allem in der hohen Konzentration zu späteren Zeitpunkten eingetreten sein müssen.

Hinzu kommt ein signifikanter Einfluss des Faktors Zeit ( $p < 0,0001$ ) und signifikante Wechselwirkungen zwischen eben diesem Zeitfaktor und den verschiedenen Konzentrationen ( $p = 0,0002$ ).

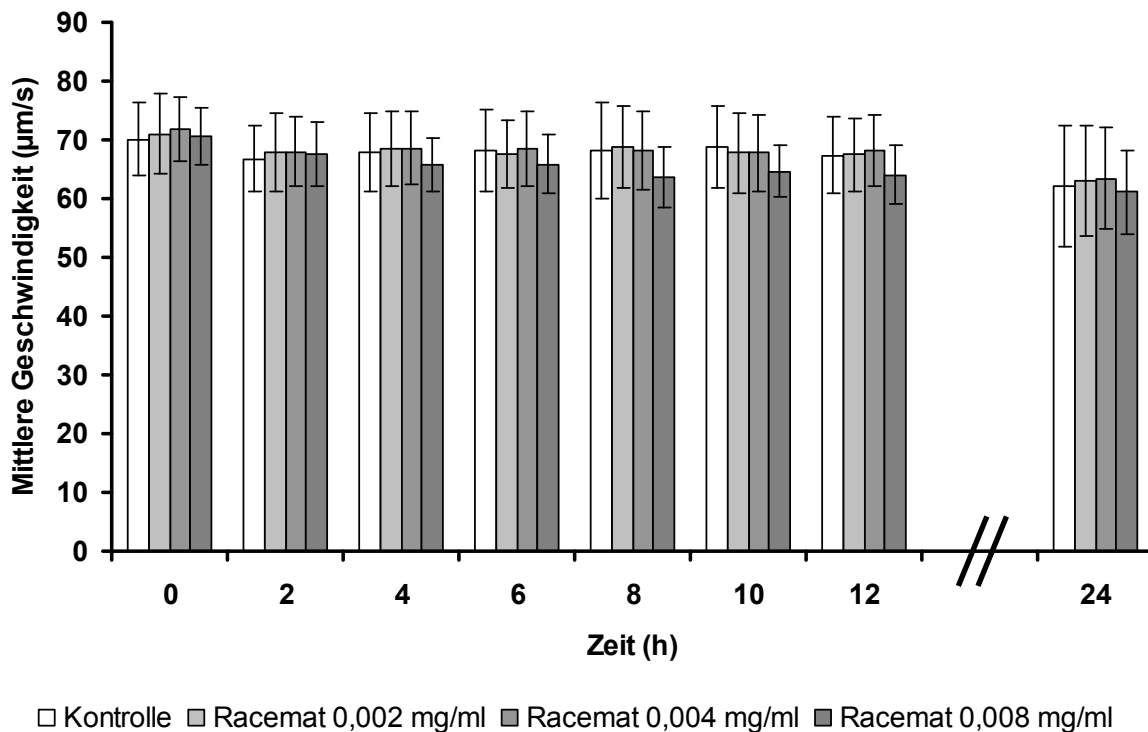


Abbildung 64: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Mittleren Geschwindigkeit ( $\mu\text{m/s}$ ) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei  $n = 30$  Messwiederholungen)

#### 4.3.7.3 VAP nach Zugabe von Cloprostenol-Enantiomer

Zu Beginn der Analysen lagen mit dem Enantiomer (Abbildung 65) die arithmetischen Mittelwerte der Mittleren Geschwindigkeiten in allen drei Konzentrationen höher als die der Kontrolle. Allerdings war weder zum Zeitpunkt 0 ( $p = 0,062$ ) noch 2 Stunden danach ( $p = 0,18$ ) ein signifikanter Effekt des Enantiomers zu erkennen.

Die allgemeine Datenbeschreibung zeigt, dass bereits ab dem zweiten Messzeitpunkt die Werte in der hohen Konzentration für die komplette restliche Versuchsdauer die niedrigsten waren.

Die Spermien in der niedrigen Konzentration zeigten in den ersten 10 Stunden Lagerzeit die höchsten Werte und nach 24 Stunden Lagerzeit lagen die Mittelwerte in den beiden niedrigeren Konzentrationen wieder über denen der Kontrolle.



Die Varianzanalyse ergab einen statistisch signifikanten Einfluss der eingesetzten Cloprostenolkonzentrationen ( $p = 0,0036$ ). Die Unterschiede zwischen den Werten der hohen Konzentration und denen der Kontrolle zu späteren Zeitpunkten waren vermutlich dafür die Ursache.

Der Faktor Zeit war ebenfalls mit entscheidend für den Rückgang der Mittleren Geschwindigkeiten ( $p < 0,0001$ ). Außerdem gab es signifikante Wechselwirkungen zwischen den beiden Faktoren Zeit und Konzentration ( $p = 0,013$ ).

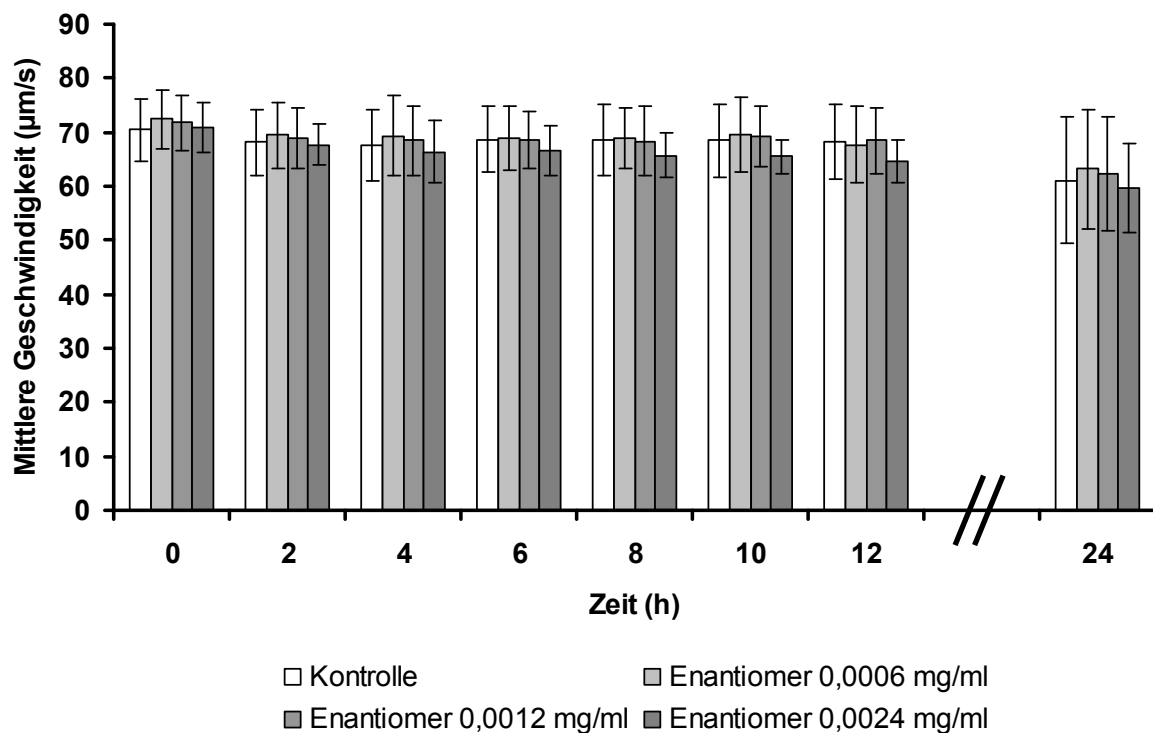


Abbildung 65: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Mittleren Geschwindigkeit ( $\mu\text{m/s}$ ) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei  $n = 30$  Messwiederholungen)

### 4.3.8 Lineare Geschwindigkeit (VSL)

Die arithmetischen Mittelwerte der Linearen Geschwindigkeiten zu den acht Analysezeitpunkten sind in Verbindung mit der Standardabweichung in Tabelle 37 in Anhang 2 chronologisch und für jedes Prostaglandinpräparat getrennt aufgeführt. Zusätzlich werden sie in den Abbildungen 66 bis 68 dargestellt.

#### 4.3.8.1 VSL nach Zugabe von Dinoprost

Die Lineare Geschwindigkeit der Spermien in der mittleren und der hohen Konzentration Dinoprost war während der gesamten Versuchsdauer geringer als in der Kontrolle. Der Unterschied war entsprechend der Prostaglandinkonzentration umso größer je höher die Konzentration war. Die Abbildung 66 veranschaulicht das sehr deutlich. Der Einfluss der Dinoprostkonzentration auf die Lineare Geschwindigkeit war in der vierfaktoriellen hierarchischen Varianzanalyse somit statistisch hoch signifikant ( $p < 0,0001$ ).

Mit Zugabe von 0,1 mg/ml Dinoprost war der Unterschied nicht so deutlich. Zu zwei Zeitpunkten (nach 6 und nach 24 Stunden Lagerzeit) war die Lineare Geschwindigkeit mit 0,1 mg/ml Dinoprost größer als in der Kontrolle. Die ersten drei Analysen zeigten keinen wesentlichen Unterschied und im Zeitraum 8 bis 12 Stunden nach dem Auftauen lagen die Werte etwas tiefer als in der Kontrolle.

Die Ergebnisse der dreifaktoriellen Varianzanalyse und des SNK-Tests bestätigten dies. Zu den Zeitpunkten 0 und 2 lag zwar immer ein statistisch signifikanter Einfluss der eingesetzten Mengen an Dinoprost vor ( $p < 0,0001$ ), allerdings beschränkte sich dieser auf die hohe Konzentration. Zu beiden Zeitpunkten waren die Differenzen zwischen den Werten in der hohen Konzentration und den übrigen drei Konzentrationen (0; 0,1 und 0,2) statistisch signifikant ( $p < 0,01$ ). Unterschiede zwischen der Kontrolle und den beiden niedrigeren Konzentrationen gab es aber keine.

Im Laufe der Versuchsdauer nahm die Lineare Geschwindigkeit in allen Konzentrationen ab, so dass der Faktor Zeit ebenfalls einen hoch signifikanten Einfluss hatte ( $p < 0,0001$ ). Hinzu kommen statistisch signifikante Wechselwirkungen zwischen den beiden Faktoren Zeit und Konzentration ( $p = 0,0004$ ).

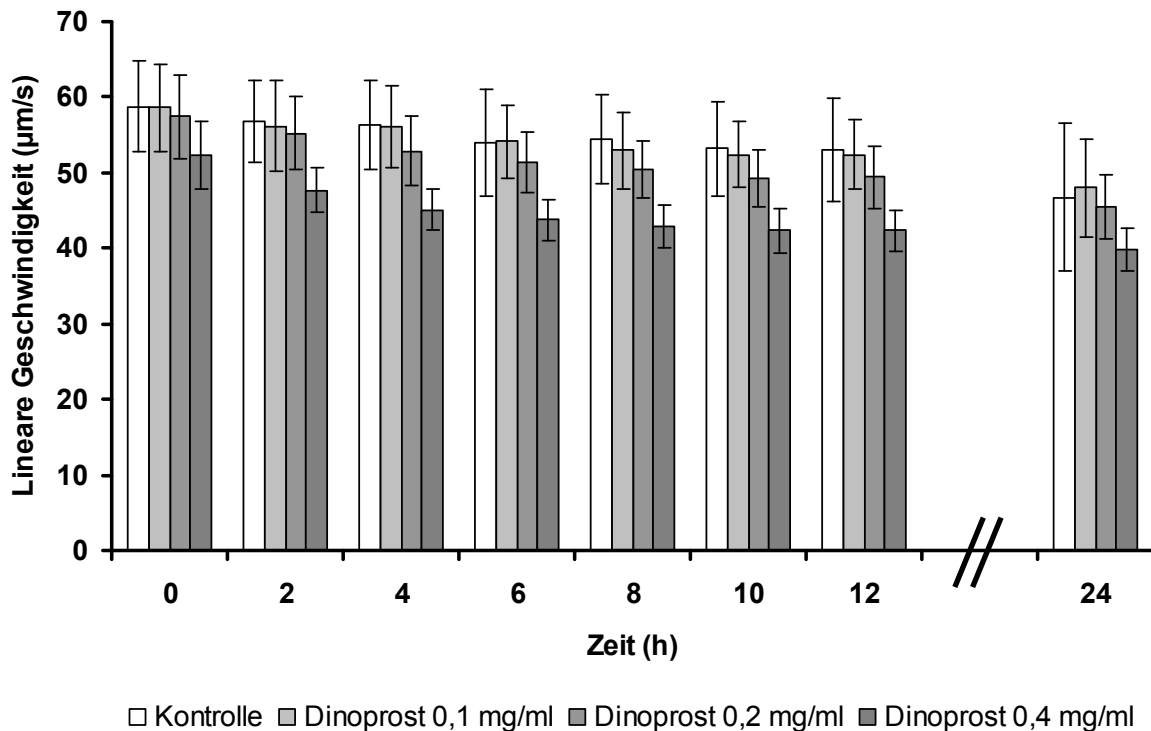


Abbildung 66: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Linearen Geschwindigkeit ( $\mu\text{m/s}$ ) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei  $n = 30$  Messwiederholungen)

#### 4.3.8.2 VSL nach Zugabe von Cloprostenol-Racemat

Nach Zusatz des Cloprostenol-Racemats (Abbildung 67) in der hohen Konzentration lagen die arithmetischen Mittelwerte während der gesamten Versuchsdauer tiefer als die der Kontrolle.

Anders dagegen war der Verlauf in der niedrigen und der mittleren Konzentration. Bis auf die Analysen nach 6 und 10 Stunden Lagerzeit zeigten die Spermien in 0,002 und 0,004 mg/ml Cloprostenol-Racemat zu den restlichen Zeitpunkten etwas größere Werte als die Kontrolle.

Global war sowohl der Einfluss der Prostaglandinkonzentration als auch der des Faktors Zeit auf die Lineare Geschwindigkeit der Spermien statistisch hoch signifikant ( $p < 0,0001$ ). Außerdem gab es signifikante Wechselwirkungen zwischen den beiden Einflussfaktoren ( $p = 0,0040$ ).

In der dreifaktoriellen Varianzanalyse zu den ersten beiden Zeitpunkten ergab sich zwar ein signifikanter Effekt der eingesetzten Mengen Racemat ( $p = 0,040$  und  $p = 0,030$ ), allerdings konnte kein signifikanter Unterschied im SNK-Test zwischen den

beiden niedrigen Konzentrationen und der Kontrolle festgestellt werden. Signifikante Differenzen bestanden vielmehr zwischen den Werten der hohen und der mittleren Konzentration zum Zeitpunkt 0 ( $p < 0,05$ ) und zwischen der hohen und der niedrigen Konzentration zum Zeitpunkt 2 Stunden nach dem Auftauen ( $p < 0,05$ ).

Der allgemeinen Datenbeschreibung zufolge resultiert der global statistisch signifikante Effekt des Racemates vermutlich aus der Differenz zwischen den Werten der hohen Konzentration und den übrigen Mittelwerten ab dem Analysezeitpunkt nach 4 Stunden.

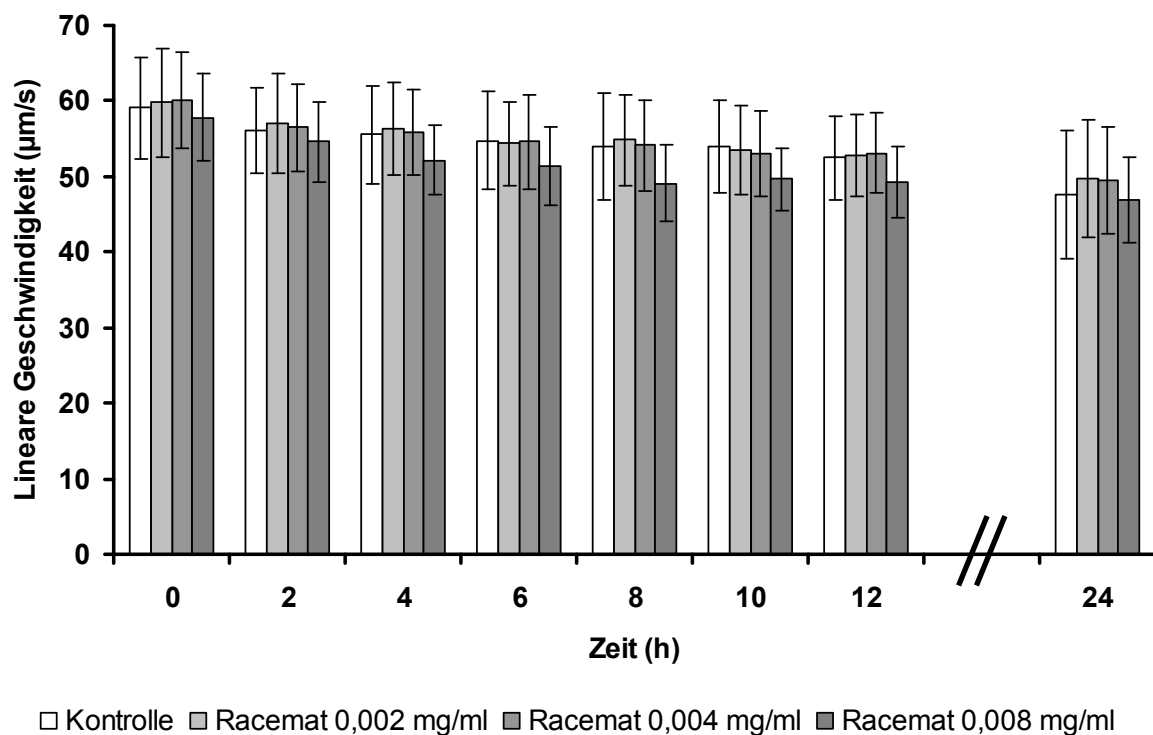


Abbildung 67: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Linearen Geschwindigkeit ( $\mu\text{m/s}$ ) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei  $n = 30$  Messwiederholungen)

#### 4.3.8.3 VSL nach Zugabe von Cloprostenol-Enantiomer

Mit dem Enantiomer des Cloprostenols (Abbildung 68) lagen die arithmetischen Mittelwerte der Linearen Geschwindigkeit direkt nach dem Auftauen in der Kontrolle und in der hohen Konzentration sehr nahe beieinander. Jedoch waren während der restlichen Versuchsdauer die Werte in 0,0024 mg/ml Cloprostenol-Enantiomer deutlich kleiner als die der Kontrolle.

In den beiden niedrigeren Konzentrationen lagen die Linearen Geschwindigkeiten direkt nach dem Auftauen und bei der letzten Analyse höher als die der Kontrolle. Zu den restlichen Messzeitpunkten waren die Werte der Kontrolle und mit 0,0006 bzw. 0,0012 mg/ml Cloprostenol-Enantiomer annähernd gleich, bzw. mit Zusatz des Prostaglandins teilweise etwas größer.

Zu den Zeitpunkten 0 und 2 ergab die dreifaktorielle Varianzanalyse einen signifikanten Effekt des Enantiomers ( $p = 0,026$  und  $p = 0,0027$ ). Allerdings zeigte der SNK-Test, dass die signifikanten Unterschiede zum Zeitpunkt 0 nur zwischen den Werten der hohen und niedrigen Konzentration bestanden ( $p < 0,05$ ). Zwei Stunden später waren die Differenzen der Werte in der hohen und den übrigen Konzentrationen signifikant ( $p < 0,05$ ). Zwischen der Kontrolle und den beiden niedrigen Konzentrationen gab es zu diesen Zeiten keine signifikanten Unterschiede. Die allgemeine Datenbeschreibung für die folgenden Messzeitpunkte lässt vermuten, dass der global hoch signifikante Einfluss des Cloprostenol-Enantiomers auf die Linearen Geschwindigkeiten der Spermien ( $p < 0,0001$ ) vermutlich durch die Reduktion der Geschwindigkeiten in der hohen Konzentration vor allem zu späteren Zeitpunkten begründet liegt.

Der Einfluss des Faktors Zeit war ebenfalls wieder statistisch hoch signifikant ( $p < 0,0001$ ) und signifikante Wechselwirkungen mit dem Faktor Konzentration gab es nicht ( $p = 0,31$ ).

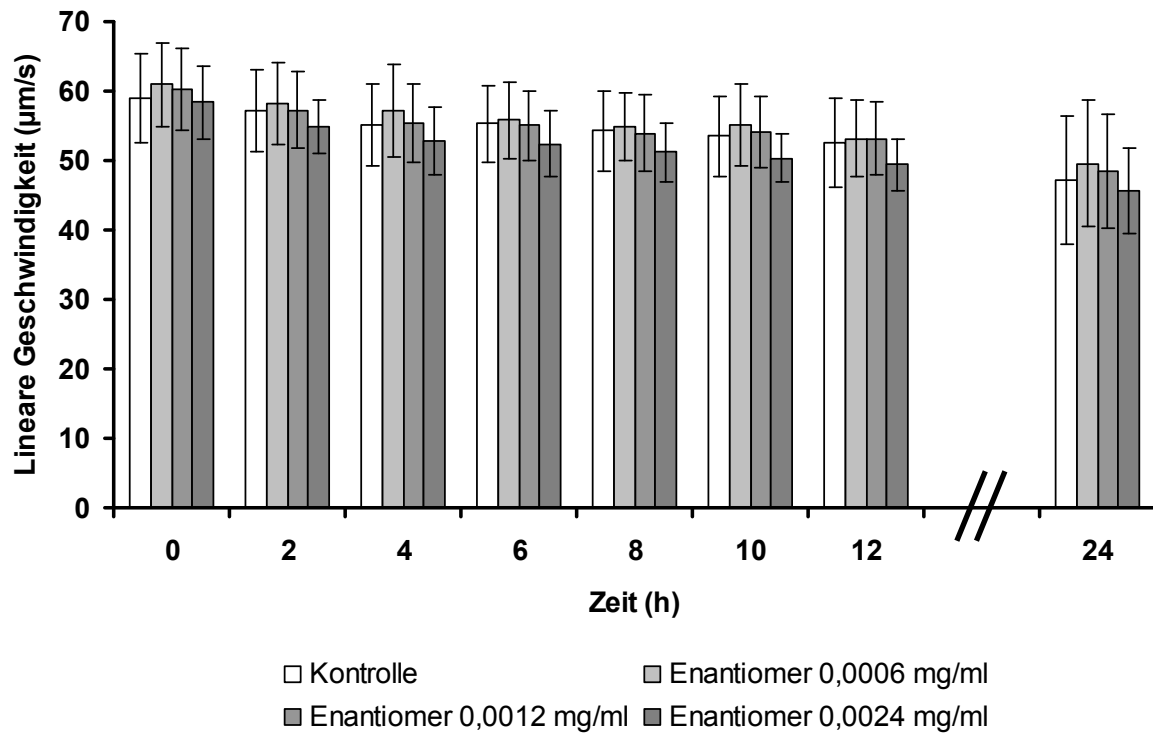


Abbildung 68: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Linearen Geschwindigkeit ( $\mu\text{m/s}$ ) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostamol-Enantiomer und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei  $n = 30$  Messwiederholungen)

### **4.3.9 Linearität der Spermienbewegung (LIN)**

Die Ergebnisse für die Linearität der Spermienbewegungen sind als arithmetische Mittelwerte aus den 30 Durchgängen in Verbindung mit der Standardabweichung in Form von Dezimalbrüchen in Tabelle 38 in Anhang 2 aufgeführt. Außerdem stellen die Abbildungen 69 bis 71 die Werte für jedes zugegebene Prostaglandinpräparat getrennt dar.

#### **4.3.9.1 Linearität nach Zugabe von Dinoprost**

Durch Dinoprostzusatz konnte keine Steigerung der Linearität der Spermienbewegung erzielt werden (Abbildung 69). Die Kontrolle zeigte durchweg die größten Werte.

Das Ergebnis der Varianzanalyse bestätigt den negativen Einfluss der zugegebenen Mengen an Dinoprost auf die Linearität. Die Konzentrationen hatten einen signifikanten Effekt ( $p < 0,0001$ ). Außerdem reduzierten sich alle Werte im Laufe des Versuchs kontinuierlich, so dass der Faktor Zeit ebenfalls einen signifikanten Einfluss hatte ( $p < 0,0001$ ). Zusätzlich waren die Wechselwirkungen zwischen diesen beiden Faktoren signifikant ( $p < 0,0001$ ).

Der Unterschied zur Kontrolle war umso größer je höher die eingesetzte Konzentration war. Dies zeigte auch der SNK-Test, nachdem die dreifaktorielle Varianzanalyse zu den Zeitpunkten 0 und 2 den signifikanten Effekt der Wirkstoffkonzentrationen bestätigte ( $p < 0,0001$ ). Die Differenzen zwischen den Werten der einzelnen Dinoprostkonzentrationen und den Kontrollen waren zu beiden Zeitpunkten stets signifikant ( $p < 0,01$ ).

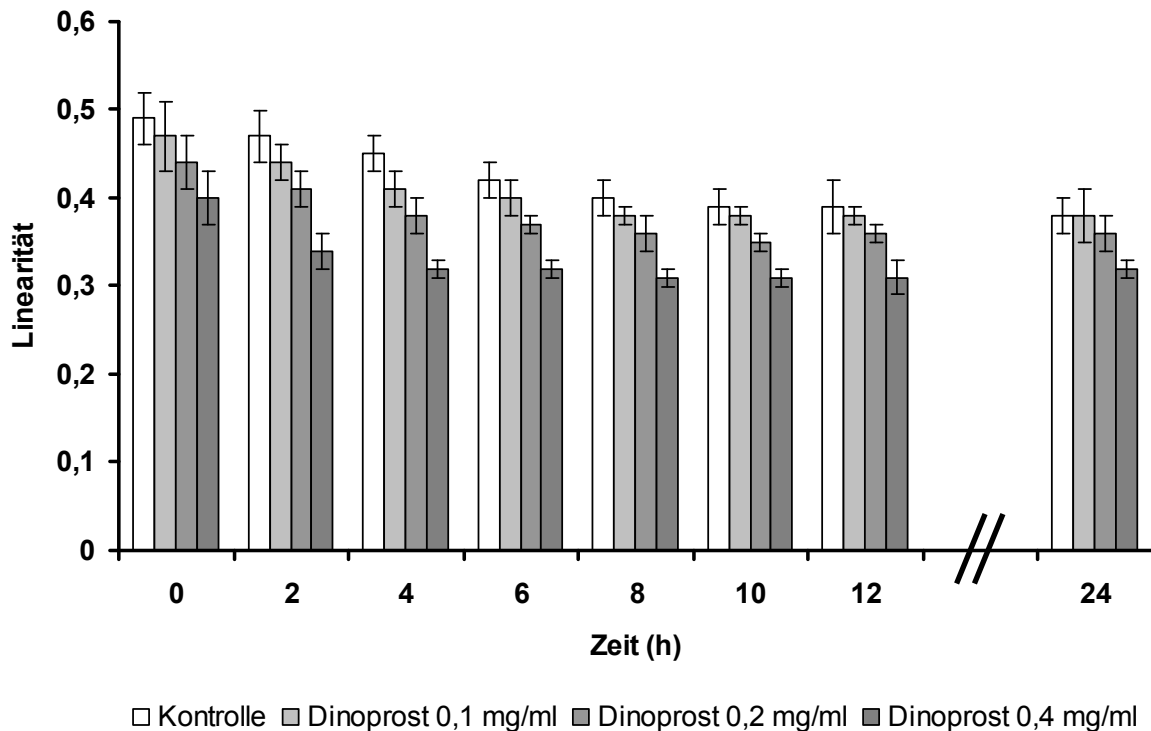


Abbildung 69: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Linearität der Spermienbewegung nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei  $n = 30$  Messwiederholungen)

#### 4.3.9.2 Linearität nach Zugabe von Cloprostenol-Racemat

Nach Zugabe des Racemats (Abbildung 70) wurde ebenfalls keine Steigerung der Linearität der Spermienbewegung erreicht. Insgesamt waren jedoch die Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Kontrolle und denen mit Zusatz von Cloprostenol kleiner als nach Dinoprostzusatz bzw. es war kein Unterschied vorhanden. Die Werte in der niedrigen Konzentration bei den Analysen nach 6 und 8 Stunden, sowie in allen eingesetzten Cloprostenolkonzentrationen nach 24 Stunden Lagerzeit, lagen etwas über denen der Kontrolle.

Der Einfluss der verwendeten Cloprostenolkonzentrationen und der Einfluss des Faktors Zeit waren beide statistisch hoch signifikant ( $p < 0,0001$ ). Signifikante Wechselwirkungen zwischen den beiden genannten Faktoren gab es ebenfalls ( $p < 0,0001$ ).

Die dreifaktorielle Varianzanalyse zu den Zeitpunkten 0 und 2 ergab einen statistisch signifikanten Effekt der verwendeten Racematkonzentrationen ( $p < 0,0001$ ). Allerdings ergab der SNK-Test im Vergleich zu den Werten nach Dinoprostzusatz



keinen signifikanten Unterschied zwischen den niedrigen Konzentrationen und den Kontrollen nach 0 bzw. 2 Stunden. Die übrigen Mittelwerte der Linearität der Spermienbewegung nach Racematzusatz zeigten dagegen signifikante Differenzen sowohl zwischen den einzelnen Konzentrationen als auch zwischen der mittleren und hohen Konzentration und der jeweiligen Kontrolle ( $p < 0,05$ ).

Die allgemeine Datenbeschreibung zeigte jedoch, dass diese Unterschiede im Verlauf des Versuchs deutlich kleiner wurden, bzw. spätestens nach 12 Stunden Lagerzeit nicht mehr vorhanden waren.

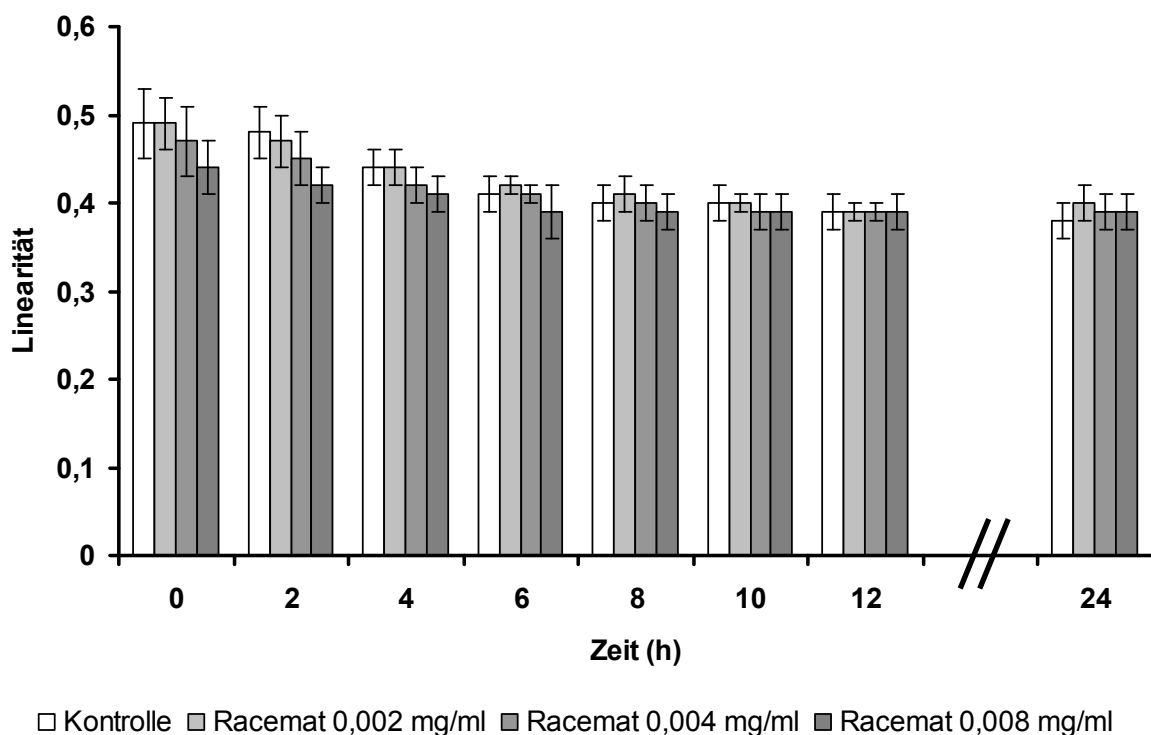


Abbildung 70: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Linearität der Spermienbewegung nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei  $n = 30$  Messwiederholungen)

#### 4.3.9.3 Linearität nach Zugabe von Cloprostenol-Enantiomer

Zu den ersten beiden Messzeitpunkten lagen die Werte der Linearität in allen drei Konzentrationen niedriger als in der Kontrolle. Die dreifaktorielle Varianzanalyse ergab entsprechend einen signifikanten Einfluss des zugesetzten Enantiomers ( $p < 0,0001$ ). Dem SNK-Test zufolge unterschieden sich die Werte zu den ersten beiden Zeitpunkten in allen vier Konzentrationen signifikant ( $p < 0,05$ ). Lediglich die Differenz der Werte der Kontrolle und der niedrigen Konzentration direkt nach dem Auftauen war nicht signifikant.

Nach 4 und 6 Stunden lag nur noch die Linearität in den beiden hohen Konzentrationen tiefer. Acht Stunden nach dem Auftauen und die drei folgenden Analysen zeigten in der niedrigen Konzentration durchweg geringgradig höhere Werte als die Kontrolle.

Die Spermien in der mittleren Konzentration wiesen ab dem Zeitpunkt 8 Stunden nach dem Auftauen die gleichen mittleren Linearitäten auf wie die Kontrolle. In der hohen Konzentration war dies erst 4 Stunden später der Fall. Insgesamt wurden die Differenzen der allgemeinen Datenbeschreibung zufolge im Laufe der Versuchsdauer immer geringer bzw. waren spätestens nach 12 Stunden Lagerung nicht mehr vorhanden.

Die vierfaktorielle hierarchische Varianzanalyse ergab folgerichtig signifikante Wechselwirkungen zwischen den Faktoren Zeit und Konzentration ( $p < 0,0001$ ). Außerdem hatten die Konzentration des Enantiomers wie auch der Faktor Zeit einen global statistisch hoch signifikanten Einfluss auf die Linearität der Spermienbewegung ( $p < 0,0001$ ).

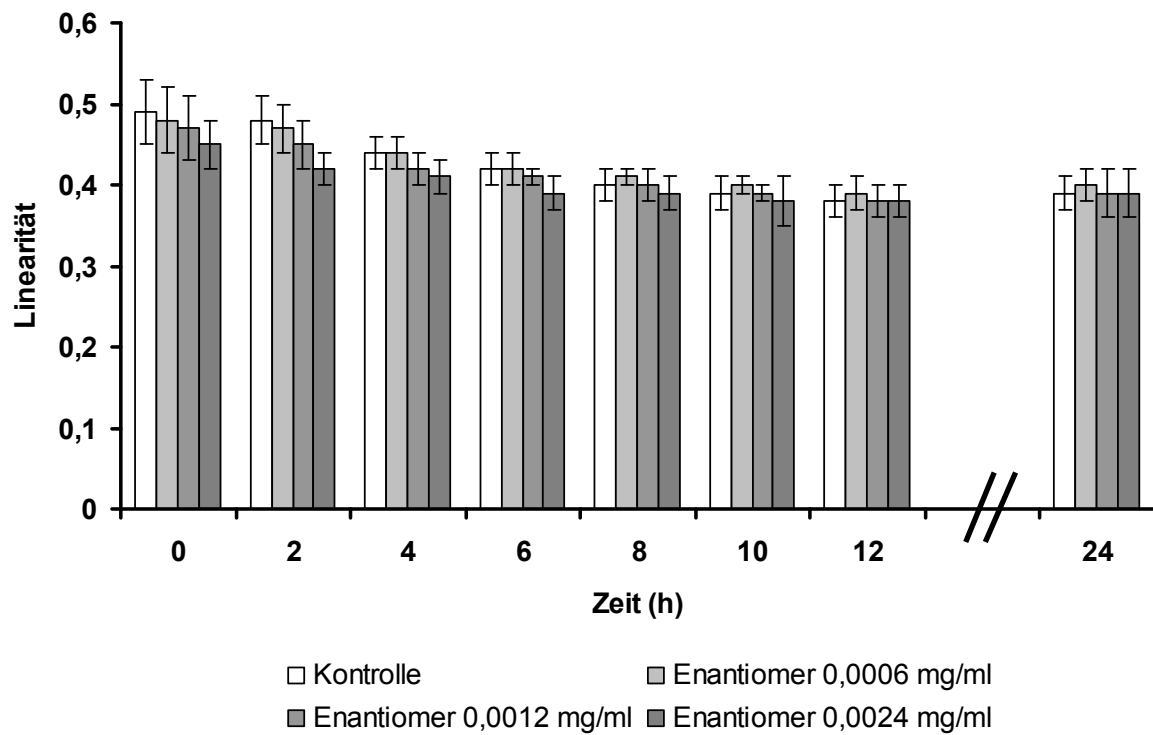


Abbildung 71: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Linearität der Spermienbewegung nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei n = 30 Messwiederholungen)

#### **4.3.10 Geradlinigkeit des durchschnittlichen Bewegungsablaufes (STR)**

In Tabelle 39 in Anhang 2 sind die arithmetischen Mittelwerte zusammen mit der Standardabweichung der ermittelten Geradlinigkeit des durchschnittlichen Bewegungsablaufes dokumentiert, jeweils getrennt nach zugegebenem Prostaglandinpräparat. Entsprechend aufgeteilt sind diese Ergebnisse auf die Abbildungen 72 bis 74, welche die Ergebnisse für jeweils einen Wirkstoff und die dazugehörige Kontrolle darstellen.

##### **4.3.10.1 STR nach Zugabe von Dinoprost**

Eine Steigerung der Geradlinigkeit des durchschnittlichen Bewegungsablaufes blieb nach Zugabe des natürlichen Prostaglandins aus (Abbildung 72). In keiner Konzentration lagen die arithmetischen Mittelwerte zu irgendeinem Analysezeitpunkt über denen der Kontrolle. Außerdem fällt auf, dass der Unterschied zur Kontrolle umso größer ist, desto höher die eingesetzte Prostaglandinkonzentration war.

Bei diesem Parameter kam es zu einem Abfall der Werte im Laufe der Versuchsdauer, wiederum am stärksten in der hohen Konzentration. Entsprechend lieferte die Varianzanalyse einen statistisch hoch signifikanten Einfluss sowohl der eingesetzten Prostaglandinkonzentration als auch des Faktors Zeit ( $p < 0,0001$ ). Signifikante Wechselwirkungen zwischen den beiden Faktoren gab es ebenfalls ( $p < 0,0001$ ).

Zusätzlich ergab die dreifaktorielle Varianzanalyse zu den Zeitpunkten 0 und 2 einen signifikanten Effekt der zugesetzten Dinoprostmengen ( $p < 0,0001$ ). Außerdem zeigte der SNK-Test, dass sich die Werte der höchsten Konzentration von allen anderen zu beiden Zeitpunkten signifikant unterschieden ( $p < 0,01$ ). Dies war auch für die Mittelwerte der mittleren Konzentration der Fall ( $p < 0,05$ ). Die Differenz zwischen niedriger Konzentration und Kontrolle war jedoch erst nach 2 Stunden Lagerzeit signifikant ( $p < 0,05$ ).

Die allgemeine Datenbeschreibung zeigt, dass sich die Mittelwerte der niedrigen Konzentration und der Kontrolle während der gesamten Versuchsdauer kaum unterschieden. Die Differenzen zur mittleren und hohen Konzentration blieben jedoch bestehen.

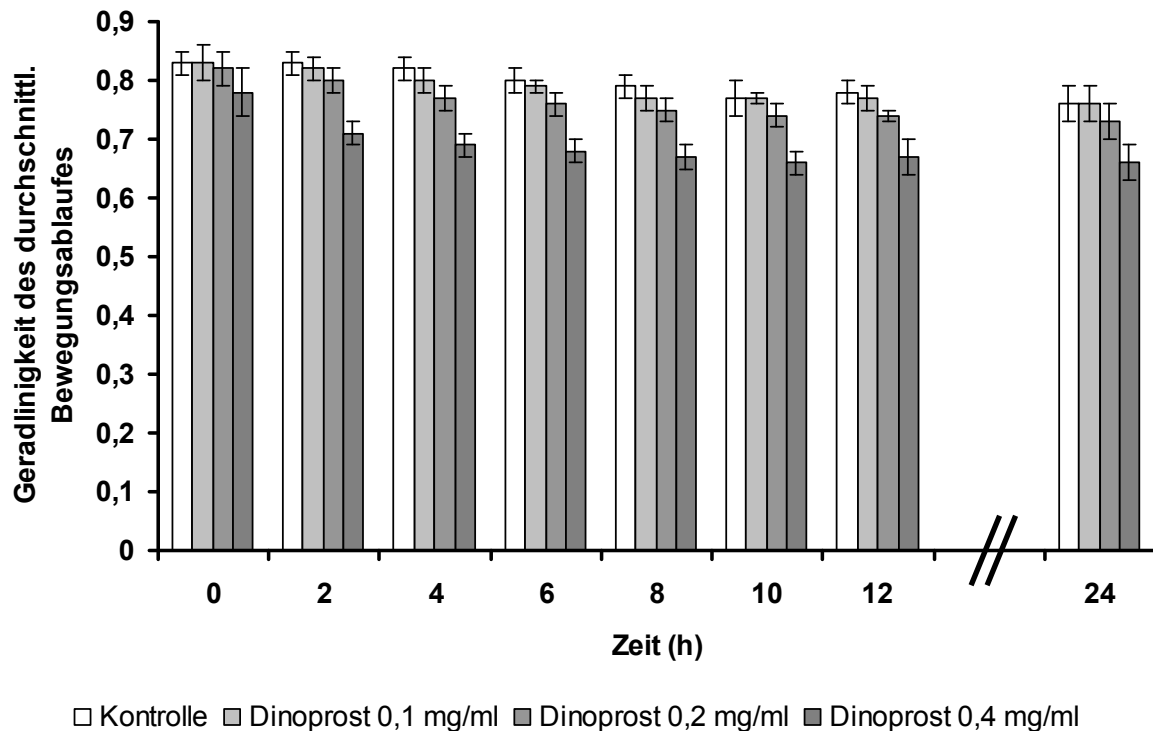


Abbildung 72: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Geradlinigkeit des durchschnittlichen Bewegungsablaufes nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei  $n = 30$  Messwiederholungen)

#### 4.3.10.2 STR nach Zugabe von Cloprostenol-Racemat

Die Unterschiede zwischen den Werten der Kontrolle und der Geradlinigkeit des durchschnittlichen Bewegungsablaufes in den eingesetzten Konzentrationen Cloprostenol-Racemat (Abbildung 73) erschienen zunächst sehr gering. Vor allem in der niedrigen Konzentration unterschieden sie sich zu drei Zeitpunkten des Versuchs. Sie lagen lediglich nach 4, 12 und 24 Stunden Lagerzeit etwas höher als die Kontrolle.

In der mittleren Konzentration gab es ebenfalls nur zu zwei Zeitpunkten Unterschiede in der Geradlinigkeit des durchschnittlichen Bewegungsablaufes im Vergleich zur Kontrolle. Jedoch bewirkte die höchste eingesetzte Konzentration einen vermehrten Abfall der Geradlinigkeit, vor allem in den ersten 8 Stunden. Danach nahmen sie nicht weiter ab und waren nach 24 Stunden wieder so groß wie die Werte der Kontrolle.

Die globale vierfaktorielle hierarchische Varianzanalyse ergab einen signifikanten Effekt der eingesetzten Racematkonzentrationen ( $p < 0,0001$ ) und des Faktors Zeit ( $p < 0,0001$ ). Signifikante Wechselwirkungen zwischen den beiden Faktoren waren ebenfalls vorhanden ( $p < 0,0001$ ).

Die allgemeine Datenbeschreibung zeigt, dass dieser Effekt in der Reduktion der Geradlinigkeit in der hohen Konzentration begründet sein musste, sowohl zu Beginn als auch zu späteren Zeitpunkten. Nach 0 und 2 Stunden Lagerzeit war der Konzentrationseffekt ebenfalls signifikant und der SNK-Test bestätigt zu diesen beiden Zeitpunkten die signifikante Differenz ( $p < 0,01$ ) zwischen den Werten der hohen Konzentration und denen der übrigen drei Konzentrationen (0; 0,002 und 0,004 mg/ml).

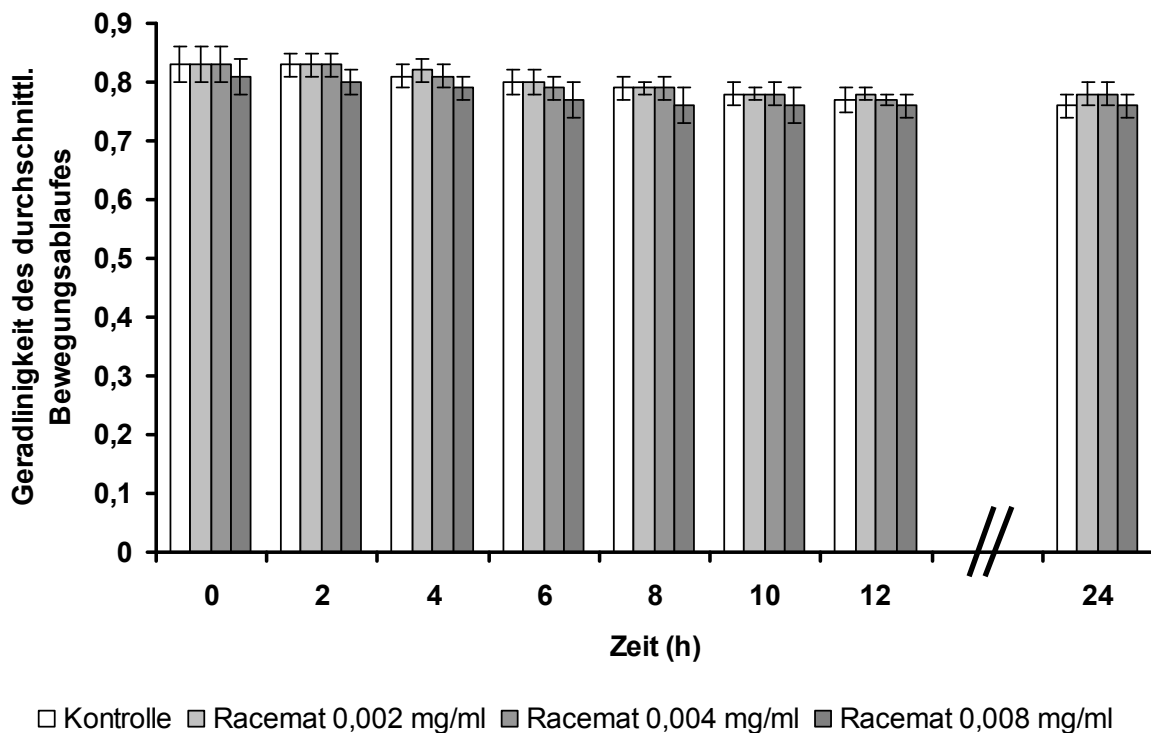


Abbildung 73: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Geradlinigkeit des durchschnittlichen Bewegungsablaufes nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei  $n = 30$  Messwiederholungen)

#### 4.3.10.3 STR nach Zugabe von Cloprostenol-Enantiomer

Durch den Zusatz des Enantiomers (Abbildung 74) konnte keine wesentliche Steigerung der Geradlinigkeit erreicht werden. Die Unterschiede zur Kontrolle fielen meist sehr gering aus.

In der hohen Konzentration lagen die Werte zu jedem Analysezeitpunkt tiefer als in der Kontrolle. 2 Stunden nach dem Auftauen waren die Werte der beiden anderen Konzentrationen kleiner als die der Kontrolle. Ansonsten war die Geradlinigkeit des durchschnittlichen Bewegungsablaufes in der niedrigen Konzentration Cloprostenol etwas größer als die Kontrolle (außer bei den Analysen nach 8 Stunden). Die mittlere Konzentration wies dagegen keinen weiteren Unterschied mehr auf.

Dennoch waren die Unterschiede vorhanden und der globale Einfluss der eingesetzten Prostaglandinkonzentrationen statistisch hoch signifikant ( $p < 0,0001$ ), ebenso wie der Einfluss des Faktors Zeit ( $p < 0,0001$ ). Signifikante Wechselwirkungen waren ebenfalls vorhanden ( $p = 0,049$ ).

Die dreifaktorielle Varianzanalyse hatte zum Ergebnis, dass die eingesetzten Konzentrationen Enantiomer nach 0 ( $p = 0,0016$ ) und 2 Stunden ( $p < 0,0001$ ) einen signifikanten Effekt auf die Geradlinigkeit der durchschnittlichen Spermienbewegung ausübten. Der SNK-Test zeigte in einer weiteren Analyse, dass die Reduktion der Werte umso höher war je größer die eingesetzte Konzentration war. So unterschieden sich zum Zeitpunkt 0 die Werte der hohen Konzentration signifikant von allen anderen ( $p < 0,01$ ), wie auch 2 Stunden danach ( $p < 0,01$ ). Nach 2 Stunden Lagerzeit kam eine signifikante Differenz zwischen der mittleren und der niedrigen Konzentration und der mittleren und der Kontrolle hinzu ( $p < 0,01$ ).

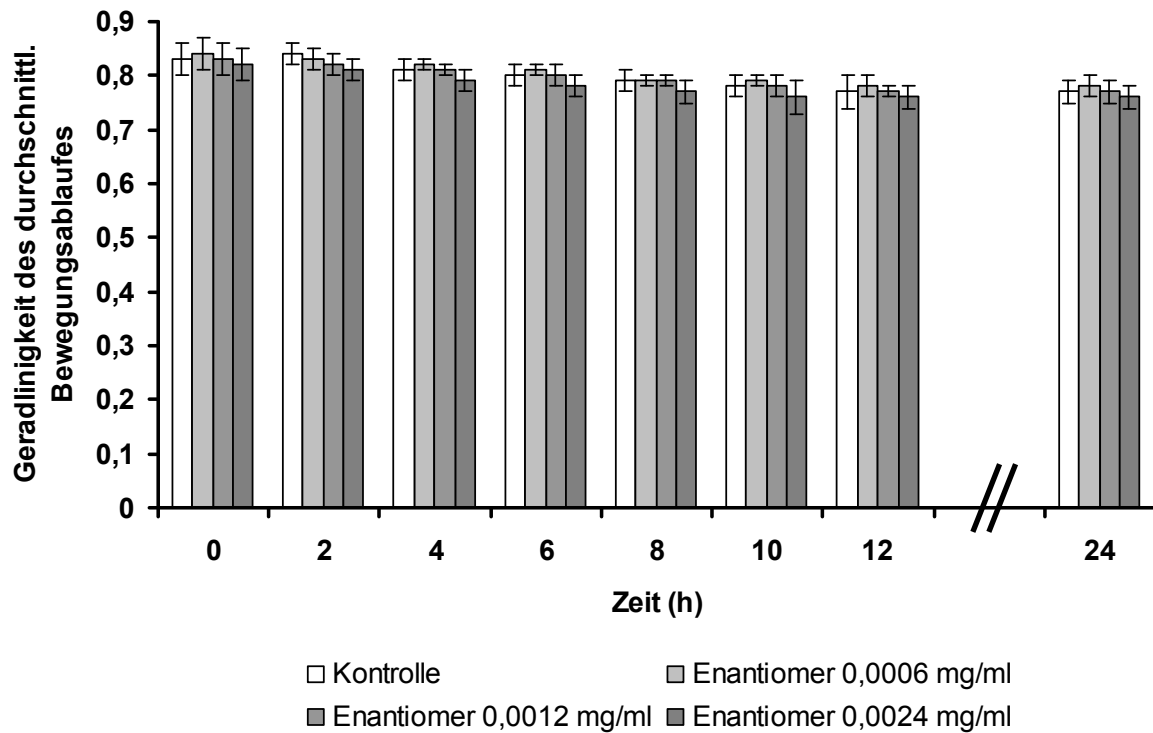


Abbildung 74: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Geradlinigkeit des durchschnittlichen Bewegungsablaufes nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei  $n = 30$  Messwiederholungen)



### **4.3.11 Auslenkung der Spermienbewegung (WOB)**

Die arithmetischen Mittelwerte der Auslenkung der Spermienbewegung sind zusammen mit der Standardabweichung in Tabelle 40 in Anhang 2 aufgelistet. Außerdem finden sich in den folgenden Kapiteln Balkendiagramme dieser Ergebnisse (Abbildungen 75 bis 77).

#### **4.3.11.1 WOB nach Zugabe von Dinoprost**

Mit Zugabe der drei Konzentrationen Dinoprost (Abbildung 75) blieben die Werte für die Auslenkung der Spermienbewegung hinter den Kontrollwerten zurück. Vor allem in den ersten drei Analysen waren die Werte deutlich kleiner. Außerdem waren die größten Unterschiede in der hohen Konzentration zu erkennen. Im Verlauf des Versuchs glichen sich der allgemeinen Datenbeschreibung zufolge die Mittelwerte mit Zugabe von Dinoprost denen der Kontrolle an.

Insgesamt nahm die Auslenkung im Versuchsverlauf ab, so dass neben dem statistisch hoch signifikanten Einfluss der Wirkstoffkonzentration ( $p < 0,0001$ ) auch der Faktor Zeit eine wichtige Rolle spielte ( $p < 0,0001$ ). Die Wechselwirkungen zwischen den beiden genannten Faktoren waren ebenfalls signifikant ( $p < 0,0001$ ).

Die dreifaktorielle Varianzanalyse und der folgende SNK-Test bestätigten den negativen Einfluss der eingesetzten Dinoprostmengen auf die Auslenkung der Spermienbewegung ( $p < 0,0001$ ) zu den Zeitpunkten 0 und 2. Sowohl direkt nach dem Auftauen als auch 2 Stunden später waren signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Konzentrationen nachweisbar ( $p < 0,01$ ).

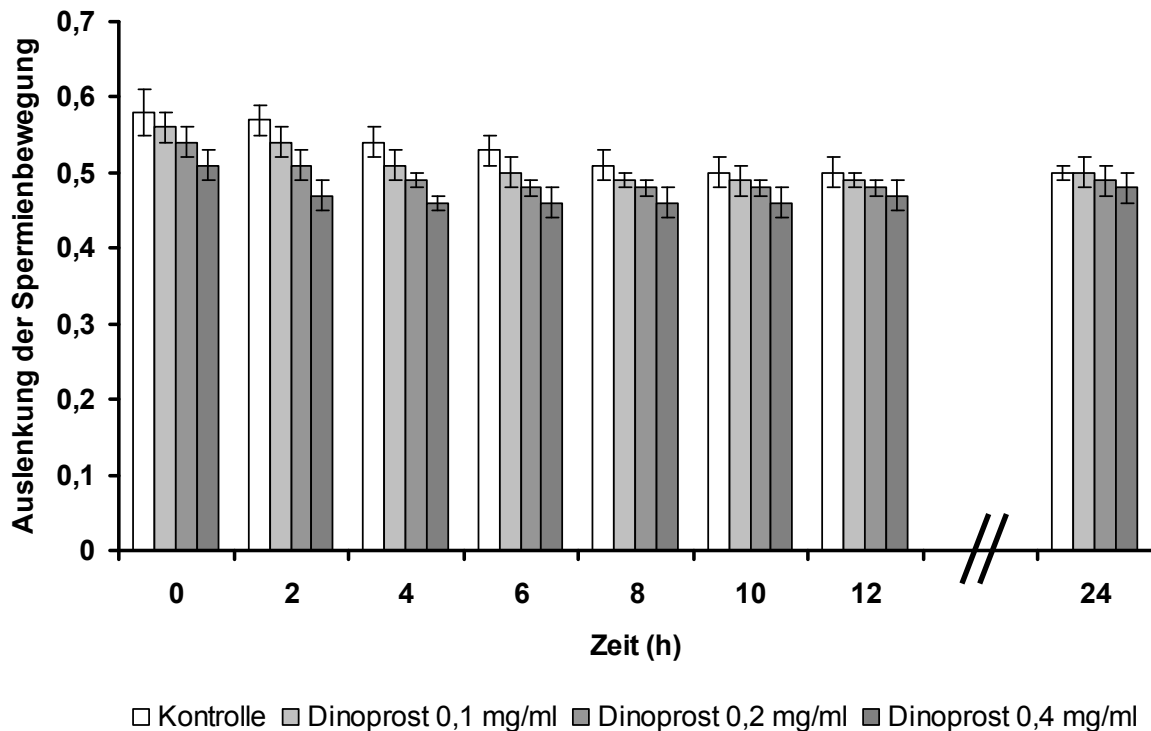


Abbildung 75: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Auslenkung der Spermienbewegung nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei  $n = 30$  Messwiederholungen)

#### 4.3.11.2 WOB nach Zugabe von Cloprostenol-Racemat

Mit Zusatz des Racemats des Cloprostenols (Abbildung 76) wurden ähnliche Ergebnisse wie mit Dinoprost erzielt. Es bestand bei den Analysen nach 0, 2 und 4 Stunden ein deutlicher Unterschied zu der Kontrolle. Die größten Unterschiede zeigten die Mittelwerte nach Zusatz der hohen Konzentration Cloprostenol. Allerdings fiel er insgesamt nicht so groß aus. Der SNK-Test zeigte jedoch, dass die bestehenden Unterschiede fast alle signifikant waren ( $p < 0,01$ ). Lediglich die Differenz zwischen der Kontrolle und der Auslenkung in der niedrigen Konzentration Racemat waren weder zum Zeitpunkt 0 noch 2 Stunden später signifikant.

Die globale vierfaktorielle Varianzanalyse ergab einen statistisch hoch signifikanten Einfluss der Wirkstoffkonzentration ( $p < 0,0001$ ) und des Faktors Zeit ( $p < 0,0001$ ). Signifikante Wechselwirkungen zwischen den beiden Faktoren waren ebenfalls vorhanden ( $p < 0,0001$ ).

Die allgemeine Datenbeschreibung zeigt, dass die zu Beginn bestehenden Unterschiede in den einzelnen Konzentrationen im Laufe der Versuchsdauer kleiner

wurden und bereits nach 8 Stunden Lagerzeit kaum noch Differenzen vorhanden waren.

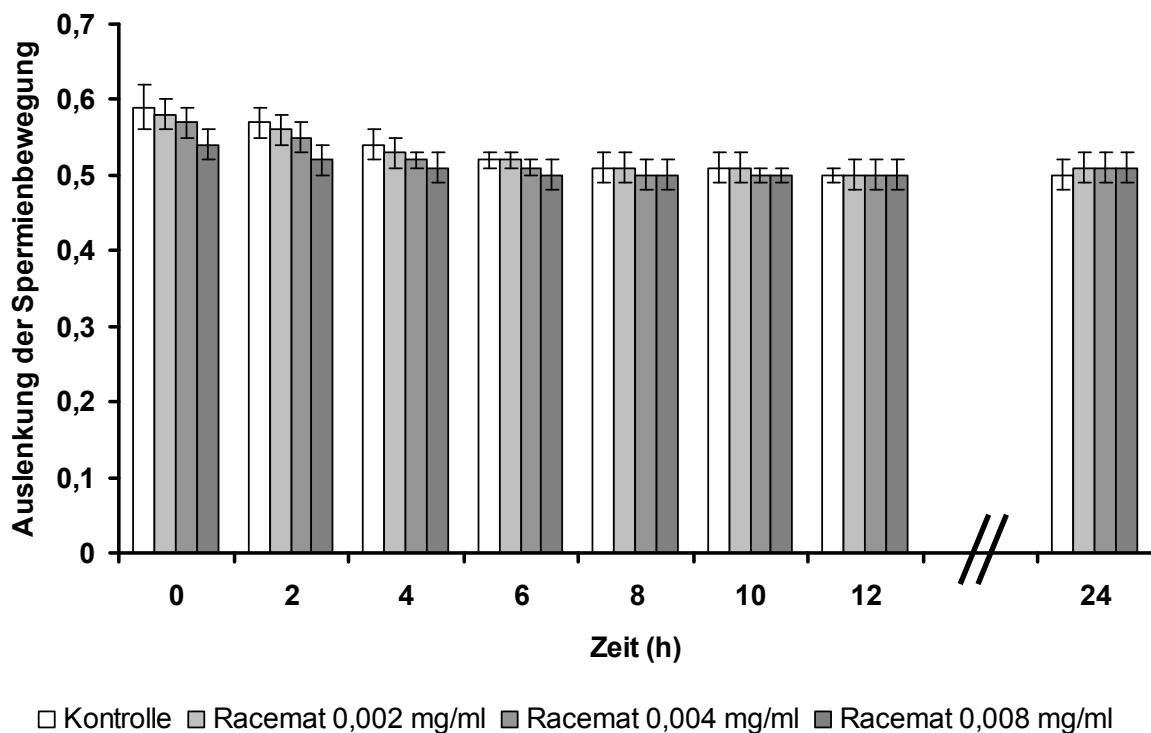


Abbildung 76: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Auslenkung der Spermienbewegung nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei n = 30 Messwiederholungen)

#### 4.3.11.3 WOB nach Zugabe von Cloprostenol-Enantiomer

Die Werte der Auslenkung der Spermienbewegung entwickelten sich nach Zugabe des Enantiomers (Abbildung 77) sehr ähnlich wie mit Zugabe des Racemats. Zu Beginn des Versuchs bestanden doch relativ deutliche Unterschiede mit den hohen Werten in der Kontrolle und niedrigeren Werten nach Zugabe von Cloprostenol. Die Spermien in der hohen Konzentration zeigten die kleinsten Werte, also die geringste Auslenkung der Spermienbewegung. Entsprechend ergab die dreifaktorielle Varianzanalyse zu den Zeitpunkten 0 und 2 einen signifikanten Einfluss der Enantiomerkonzentration ( $p < 0,0001$ ). Der SNK-Test zeigte, dass die Unterschiede der Mittelwerte zwischen den einzelnen Konzentrationen zu beiden Zeitpunkten signifikant waren ( $p < 0,01$ ). Lediglich der Unterschied zum Zeitpunkt 0 zwischen der Kontrolle und der niedrigen Konzentration war nicht signifikant, bzw. zum Zeitpunkt 2

Stunden nach dem Auftauen war der Unterschied zwischen diesen beiden Gruppen nur schwach signifikant ( $p < 0,05$ ).

Die globale vierfaktorielle Varianzanalyse ergab, dass die Effekte der Wirkstoffkonzentration und des Faktors Zeit statistisch hoch signifikant waren ( $p < 0,0001$ ). Außerdem gab es signifikante Wechselwirkungen zwischen den beiden genannten Faktoren ( $p < 0,0001$ ).

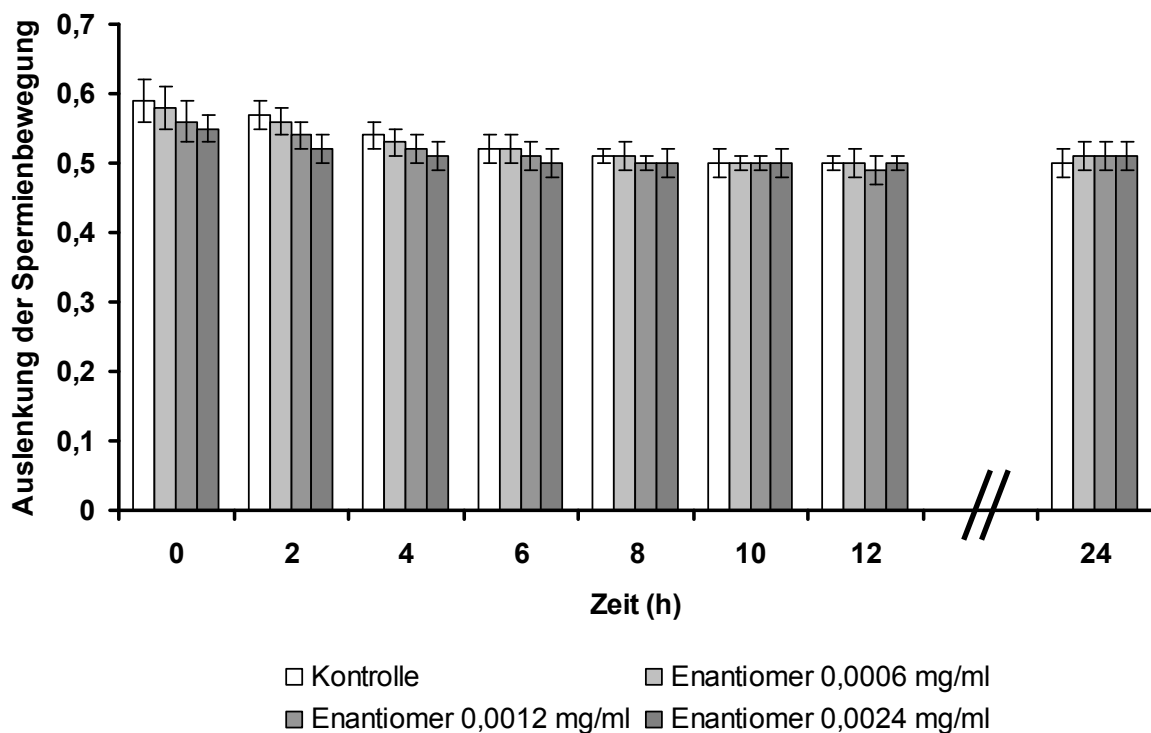


Abbildung 77: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Auslenkung der Spermienbewegung nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostamol-Enantiomer und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei  $n = 30$  Messwiederholungen)

#### **4.3.12 Frequenz der lateralen Kopfbewegungen (BCF)**

Die arithmetischen Mittelwerte aus den 30 Durchgängen für die Frequenz der lateralen Kopfbewegungen sind zusammen mit der Standardabweichung in Tabelle 41 in Anhang 2 aufgeführt. Desweiteren verdeutlichen die Abbildungen 78 bis 80 die Entwicklung dieses Parameters in Versuch 2.

##### **4.3.12.1 BCF nach Zugabe von Dinoprost**

Die Frequenz der lateralen Kopfbewegungen lag mit Zugabe von Dinoprost zu jedem Analysezeitpunkt und in allen drei zugesetzten Konzentrationen unter der Kontrollfrequenz (Abbildung 78). Außerdem war sie immer in den Proben mit der hohen Konzentration am geringsten und nahm in allen Konzentrationen im Versuchsverlauf stetig ab.

Somit konnte ein statistisch hoch signifikanter Einfluss sowohl der Wirkstoffkonzentration ( $p < 0,0001$ ) als auch des Faktors Zeit ( $p < 0,0001$ ) in der vierfaktoriellen Varianzanalyse nachgewiesen werden. Signifikante Wechselwirkungen zwischen den Faktoren Zeit und Konzentration gab es ebenfalls ( $p < 0,0001$ ).

Die dreifaktorielle Varianzanalyse konnte zu den Zeitpunkten 0 und 2 einen signifikanten Effekt der Wirkstoffkonzentrationen nachweisen ( $p < 0,0001$ ). Im SNK-Test wurde deutlich, dass sich zu diesen beiden Messzeitpunkten die Mittelwerte zwischen allen Konzentrationen signifikant unterschieden ( $p < 0,01$ ).

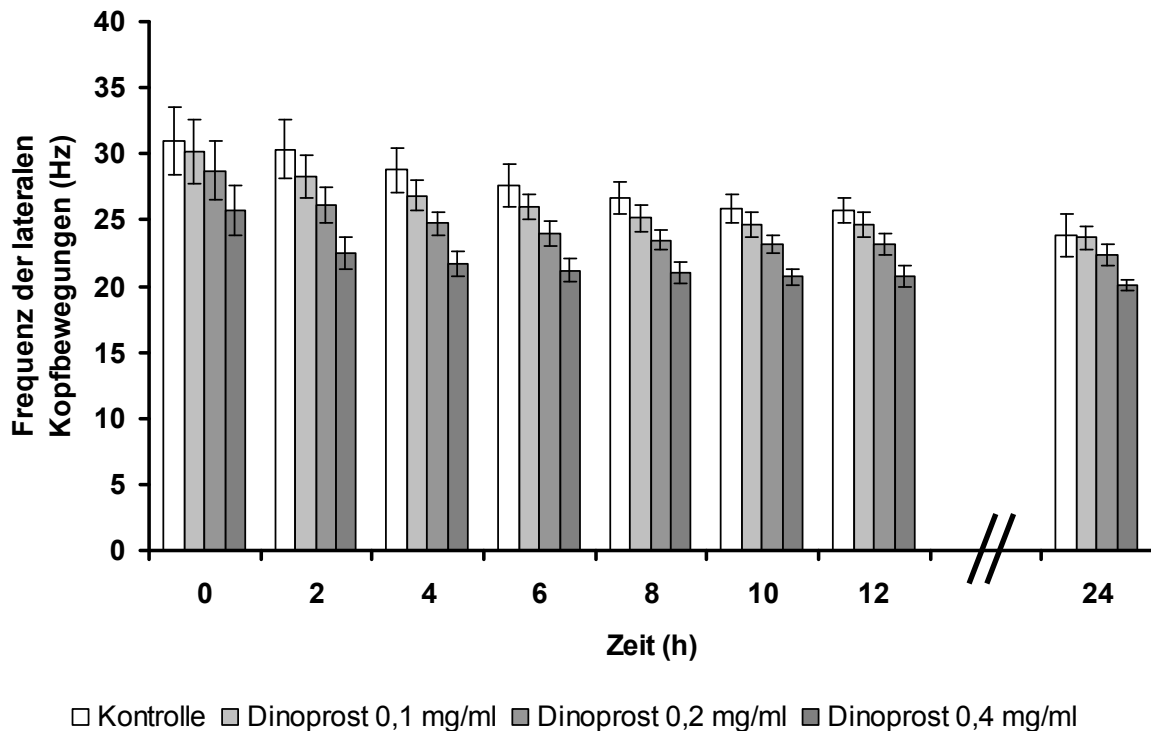


Abbildung 78: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Frequenz der lateralen Kopfbewegungen (Hz) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei  $n = 30$  Messwiederholungen)

#### 4.3.12.2 BCF nach Zugabe von Cloprostenol-Racemat

Die Frequenz der lateralen Kopfbewegungen mit Zugabe des Racemats des synthetischen Prostaglandins entwickelte sich im Laufe der Versuchsdauer sehr ähnlich (Abbildung 79). Die Mittelwerte lagen mit Cloprostenol immer unter der Frequenz der Kontrolle. Nur nach 24 Stunden Lagerzeit waren sie sowohl mit 0,002 als auch mit 0,004 mg/ml Cloprostenol-Racemat einmalig höher. Der Unterschied war zu diesem Zeitpunkt jedoch sehr gering.

Insgesamt waren die Unterschiede nicht so groß wie nach Zugabe von Dinoprost, vor allem weil die Werte der höchsten Konzentration nicht so stark abnahmen wie mit 0,4 mg/ml Dinoprost. Dennoch war durch das Racemat ebenfalls ein statistisch hoch signifikanter Einfluss auf die Frequenz der lateralen Kopfbewegungen vorhanden ( $p < 0,0001$ ). Außerdem reduzierten sich die Frequenzen in den 24 Stunden Versuchsdauer in allen Konzentrationen, so dass ein statistisch hoch signifikanter Einfluss des Faktors Zeit vorlag ( $p < 0,0001$ ). Die Wechselwirkungen zwischen den

beiden Faktoren Zeit und Konzentration waren ebenfalls statistisch signifikant ( $p < 0,0001$ ).

Außerdem ergab die dreifaktorielle Varianzanalyse zu den Zeitpunkten 0 und 2 einen signifikanten Wirkstoffeinfluss auf die Frequenz ( $p < 0,0001$ ). Im SNK-Test konnte zum Zeitpunkt 0 ein signifikanter Unterschied zwischen den Werten der hohen Konzentration und den übrigen drei Konzentrationen festgestellt werden ( $p < 0,01$ ). Die Werte in der mittleren Konzentration zeigten ebenfalls signifikante Differenzen zur Kontrolle ( $p < 0,05$ ), allerdings war der Unterschied zwischen der niedrigen Konzentration und der Kontrolle nicht signifikant, ebenso die Differenz zwischen der mittleren und der niedrigen Konzentration.

Zum Zeitpunkt 2 Stunden nach dem Auftauen waren die Werte in der hohen Konzentration Racemat wieder signifikant unterschiedlich zu allen anderen ( $p < 0,01$ ). Dies war auch bei den Werten der mittleren Konzentration der Fall ( $p < 0,01$ ). Lediglich die Messungen der Frequenz in der niedrigen Konzentration unterschieden sich nicht signifikant von denen der Kontrolle zu diesem Zeitpunkt.

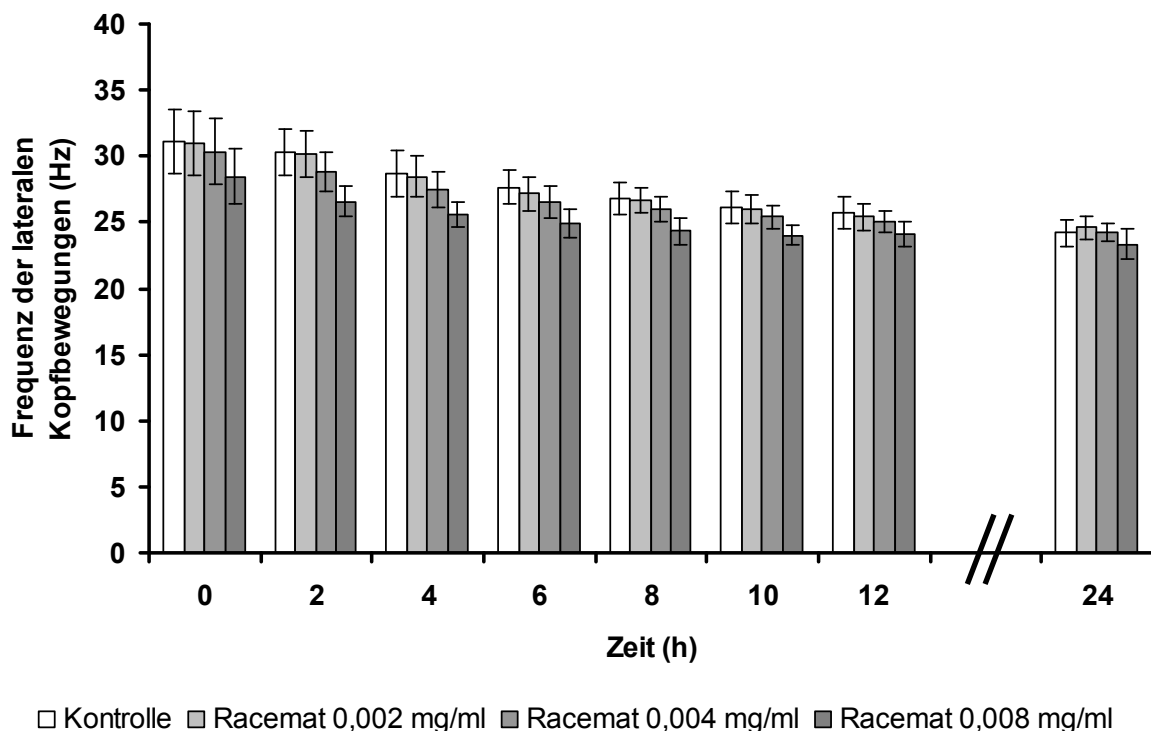


Abbildung 79: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Frequenz der lateralen Kopfbewegungen (Hz) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei  $n = 30$  Messwiederholungen)

#### 4.3.12.3 BCF nach Zugabe von Cloprostenol-Enantiomer

Nach Zugabe des Enantiomers waren Unterschiede zur Kontrolle vor allem in der hohen Konzentration vorhanden (Abbildung 80). Sie fielen jedoch nicht so stark aus wie mit dem natürlichen Prostaglandin. In der mittleren und der hohen Konzentration waren die Frequenzen während des gesamten Versuches geringer als in der Kontrolle. Zu Beginn waren größere Differenzen vorhanden als bei den letzten Analysen. In der niedrigen Konzentration waren bereits nach 4 Stunden Lagerzeit keine wesentlichen Unterschiede mehr vorhanden.

Die globale vierfaktorielle Varianzanalyse hatte zum Ergebnis, dass sowohl die Wirkstoffkonzentrationen ( $p < 0,0001$ ) als auch der Faktor Zeit ( $p < 0,0001$ ) einen statistisch hoch signifikanten Einfluss auf die Frequenz der lateralen Kopfbewegungen der Spermien hatten. Außerdem waren die Wechselwirkungen zwischen den beiden Faktoren signifikant ( $p < 0,0001$ ).

Die Messwerte zu den Zeitpunkten 0 und 2 zeigten in der dreifaktoriellen Varianzanalyse ebenfalls einen statistisch signifikanten Einfluss der eingesetzten Mengen Enantiomer ( $p < 0,0001$ ). Im SNK-Test wurde deutlich, dass sich die Werte in der mittleren und in der hohen Konzentration von allen anderen signifikant unterschieden ( $p < 0,01$ ). Lediglich die Differenz zwischen der niedrigen Konzentration und der Kontrolle war zu beiden Zeitpunkten nicht signifikant.



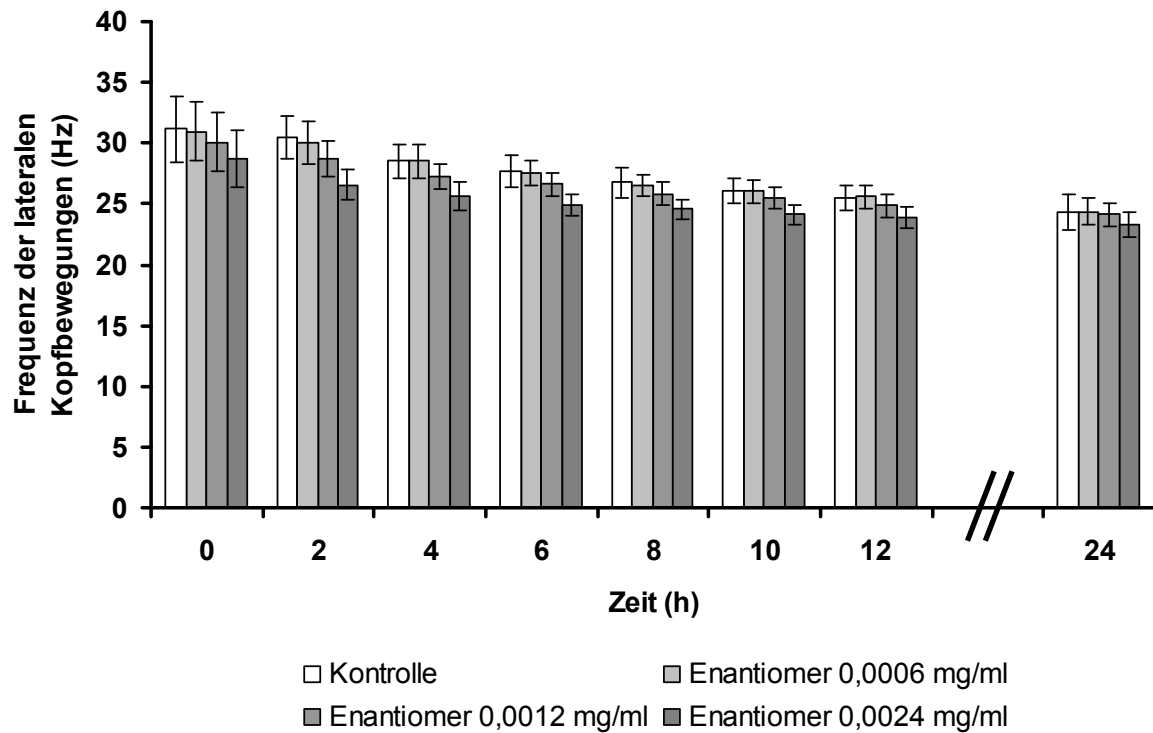


Abbildung 80: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Frequenz der lateralen Kopfbewegungen (Hz) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei n = 30 Messwiederholungen)

### **4.3.13 Amplitude der lateralen Kopfbewegungen (ALH)**

Die Amplituden der lateralen Kopfbewegungen sind in Form von arithmetischen Mittelwerten zusammen mit der Standardabweichung in Tabelle 42 in Anhang 2 aufgeführt. Außerdem werden die Ergebnisse in den Abbildungen 81 bis 83 dargestellt.

#### **4.3.13.1 ALH nach Zugabe von Dinoprost**

Die Amplituden der lateralen Kopfbewegungen waren in der Kontrolle zu jedem Analysezeitpunkt kleiner als nach Zugabe der drei Konzentrationen Dinoprost (Abbildung 81). Je mehr Dinoprost hinzu gegeben wurde, umso größer wurden die Amplituden der Spermienbewegungen. Außerdem nahmen die Amplituden im Laufe der Versuchsdauer stetig zu, so dass in jeder Konzentration und der Kontrolle 10 Stunden nach dem Auftauen das Maximum erreicht wurde. In den zwei folgenden Messungen gingen die Größen der Amplituden im Mittel wieder leicht zurück.

Die vierfaktorielle Varianzanalyse konnte mit  $p < 0,0001$  den statistisch hoch signifikanten Einfluss der Dinoprostkonzentrationen ebenso wie den des Faktors Zeit ( $p < 0,0001$ ) bestätigen. Signifikante Wechselwirkungen zwischen den beiden genannten Faktoren gab es ebenfalls ( $p < 0,0001$ ).

Die dreifaktorielle Varianzanalyse hatte zum Ergebnis, dass zu den beiden Zeitpunkten 0 und 2 der Einfluss des Dinoprosts auf die Amplituden der lateralen Kopfbewegungen der Spermien signifikant war ( $p < 0,0001$ ). Außerdem waren im SNK-Test die Unterschiede zwischen den Werten in den vier verschiedenen Konzentrationen zu den beiden Zeitpunkten signifikant ( $p < 0,01$ ). Lediglich die Differenz der mittleren ALH zwischen der Kontrolle und den Spermien in der niedrigen Konzentration direkt nach dem Auftauen war nicht signifikant.

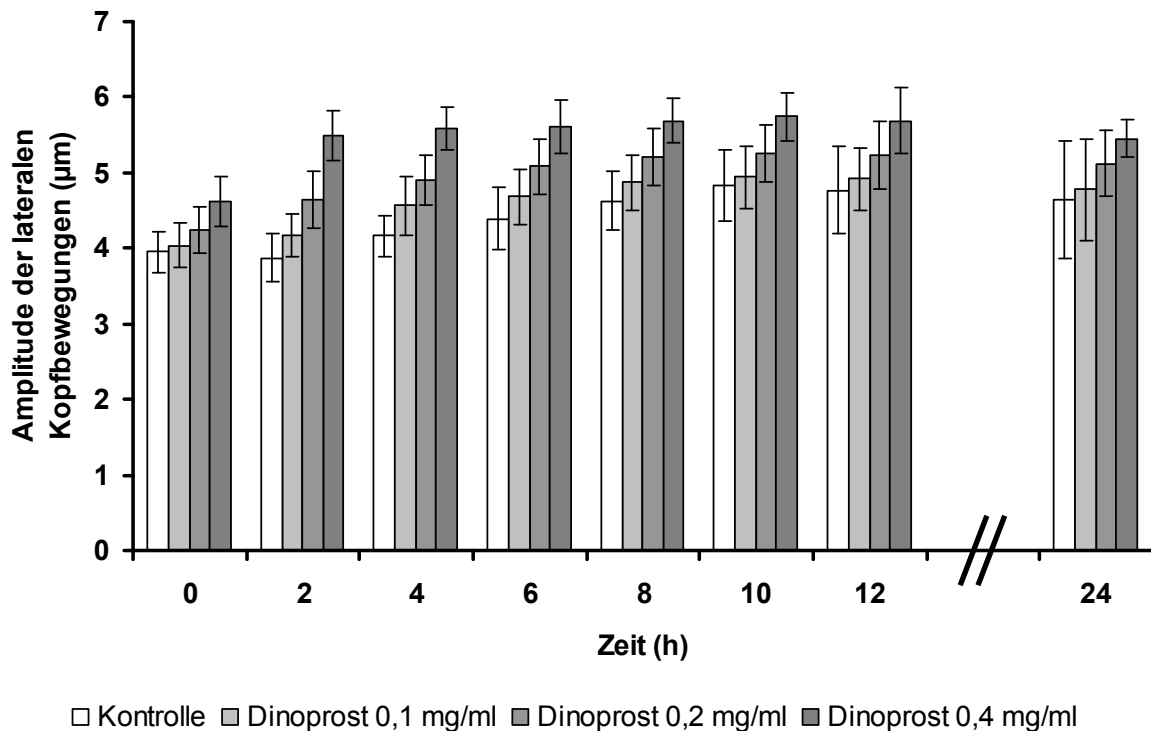


Abbildung 81: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Amplitude der lateralen Kopfbewegungen ( $\mu\text{m}$ ) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei  $n = 30$  Messwiederholungen)

#### 4.3.13.2 ALH nach Zugabe von Cloprostenol-Racemat

Das Maximum der Amplituden der lateralen Kopfbewegungen war mit Racematzusatz 12 Stunden nach dem Auftauen erreicht (Abbildung 82). Die Werte waren mit Zugabe des Prostaglandins meist höher als die Kontrolle, allerdings war der Unterschied nicht groß.

Dennoch war der Einfluss der eingesetzten Wirkstoffkonzentrationen statistisch hoch signifikant ( $p = 0,0001$ ), ebenso wie der des Faktors Zeit ( $p < 0,0001$ ). Außerdem gab es signifikante Wechselwirkungen zwischen den Faktoren Zeit und Konzentration ( $p < 0,0001$ ).

Die dreifaktorielle Varianzanalyse für die Zeitpunkte 0 und 2 zeigte, dass die eingesetzte Menge Racemat einen signifikanten Effekt auf die Amplitudengröße der Kopfbewegungen zu diesem Zeitpunkt hatte ( $p < 0,0001$ ). Der allgemeinen Datenbeschreibung zufolge wurde dieser Unterschied zur Kontrolle im Laufe der Versuchsdauer geringer und war 8 Stunden nach dem Auftauen fast nicht mehr vorhanden.

Der SNK-Test ergab, dass die mittlere und die hohe Konzentration jeweils einen signifikanten Einfluss auf die ALH hatte. Die Werte unterscheiden sich zu den Zeitpunkten 0 und 2 sowohl von der Kontrolle ( $p < 0,01$ ), als auch von der niedrigen Konzentration ( $p < 0,05$ ). Außerdem sind die Differenzen zwischen der hohen und mittleren Konzentration signifikant ( $p < 0,01$ ). Lediglich die geringste Menge an Cloprostenol-Racemat von 0,002 mg/ml hatte im Vergleich zur Kontrolle keinen Effekt.

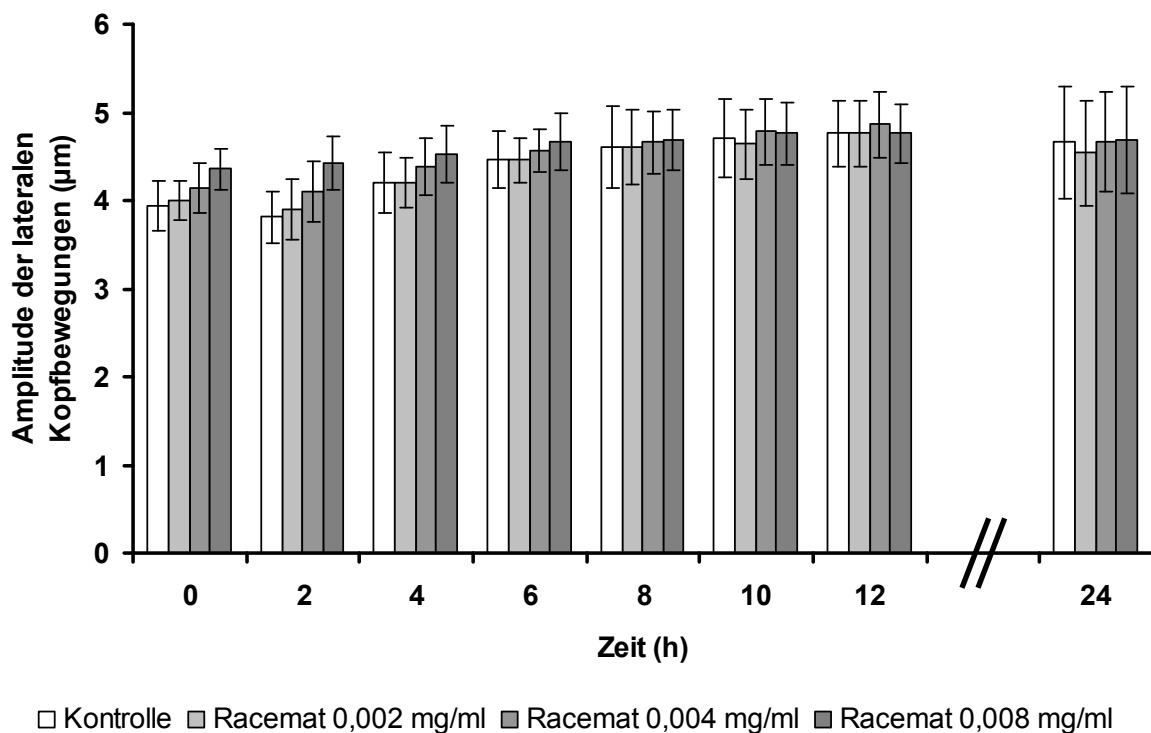


Abbildung 82: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Amplitude der lateralen Kopfbewegungen ( $\mu\text{m}$ ) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei  $n = 30$  Messwiederholungen)

#### 4.3.13.3 ALH nach Zugabe von Cloprostenol-Enantiomer

Die Amplituden der lateralen Kopfbewegungen wurden im Laufe des Versuchs immer größer. Sie erreichten ein Maximum nach 12 Stunden in allen Konzentrationen des Enantiomers (Abbildung 83). Hin zum letzten Analysezeitpunkt wurden die Werte wieder kleiner.

Bei den Messungen nach 0 und 2 Stunden lagen die Amplituden der lateralen Kopfbewegungen über den Werten der Kontrolle. Der Unterschied war nicht so deutlich wie mit Dinoprostzusatz. Außerdem wurde er im Laufe der Versuchsdauer immer geringer und war bereits 4 Stunden nach dem Auftauen zwischen der Kontrolle und den Spermien in der niedrigen Konzentration nicht mehr vorhanden. Spätestens nach 10 Stunden unterschieden sich die beiden anderen Konzentrationen nicht mehr von der Kontrolle und nach 24 Stunden Lagerzeit lagen in allen 4 Konzentrationen annähernd die gleichen Werte vor.

Der globale Einfluss des Enantiomers auf die Amplitude der lateralen Kopfbewegungen durch die verwendeten Cloprostenolkonzentrationen war dennoch statistisch signifikant ( $p = 0,0010$ ). Der Faktor Zeit übte einen statistisch signifikanten Einfluss auf die Amplituden aus ( $p < 0,0001$ ) und die Wechselwirkungen zwischen den beiden Faktoren waren ebenfalls signifikant ( $p < 0,0001$ ).

In der dreifaktoriellen Varianzanalyse hatten zu den Zeitpunkten 0 und 2 die eingesetzten Mengen des Cloprostenol-Enantiomers ebenfalls einen signifikanten Effekt ( $p < 0,0001$ ).

Der SNK-Test zeigte, dass direkt nach dem Auftauen die Differenzen zwischen der hohen Konzentration und allen anderen ( $p < 0,01$ ) und der mittleren Konzentration und der Kontrolle ( $p < 0,05$ ) signifikant waren. Keine signifikanten Unterschiede in der Amplitudenlänge gab es zwischen der Kontrolle und der niedrigen bzw. der niedrigen und der mittleren Konzentration zum Zeitpunkt 0.

Zwei Stunden später wurde die ALH durch Zugabe des Enantiomers deutlicher gesteigert, so dass sich im SNK-Test die Mittelwerte der Amplituden der lateralen Kopfbewegungen in allen Konzentrationen statistisch signifikant voneinander unterschieden ( $p < 0,01$ ).

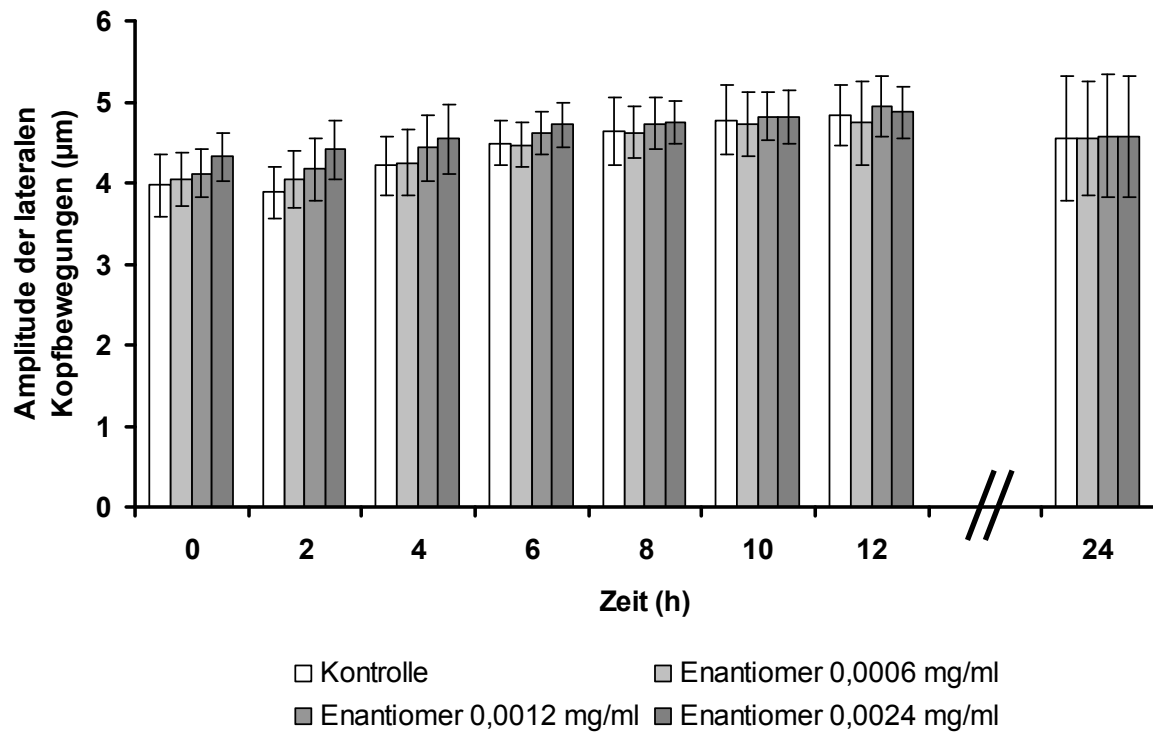


Abbildung 83: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Amplitude der lateralen Kopfbewegungen ( $\mu\text{m}$ ) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei  $n = 30$  Messwiederholungen)

## 5 Diskussion

### 5.1 Diskussion der Fragestellung

Die Besamung ist in Milchviehbetrieben aufgrund der ökonomischen Vorteile von großer wirtschaftlicher Bedeutung. Dennoch werden mit einem Deckbullen bessere Trächtigkeitsraten erreicht und moderne Milchviehbetriebe erreichen selten einen Erstbesamungserfolg von über 40 % bei Kühen (LUCY 2007). Ursächlich dafür sind vor allem hohe Milchleistungen und die daraus resultierende negative Energiebilanz (BERRY et al. 2003). Diverse Studien berichteten deshalb von Versuchen, mittels Einsatz von  $\text{PGF}_{2\alpha}$  in vivo bei der Besamung die Trächtigkeitsraten zu steigern.

Die systemische Applikation erzielte Ergebnisse mit wechselhaftem Erfolg. Einige Autoren konnten nach systemischer  $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Gabe keinen positiven Effekt auf die Trächtigkeitsraten von Milchkühen und Färsen feststellen (GABRIEL et al. 2011, PATTANIK et al. 2010, KAUFFOLD et al. 2009). Andere Studien berichten jedoch von einer signifikanten Steigerung der Trächtigkeitsraten nach systemischer  $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Applikation zum Besamungszeitpunkt (JAEGER 2005, LÓPEZ-GATIUS et al. 2004, PRINZEN et al. 1991).

Bei der lokalen Instillation in den Uterus zum Besamungszeitpunkt, entweder zeitgleich mit oder nach der Besamung, kann das  $\text{PGF}_{2\alpha}$  zusätzlich zum passiven Spermientransport auch direkt auf die Spermien wirken. Beim Rind gibt es bis jetzt nur zwei Studien, die von dieser Applikationsart berichten. GABRIEL et al. (2011) instillierten separat zur Besamungsportion 0,25 mg Dinoprost nach der Besamung in den Uterus. JAEGER (2005) verwendete ebenfalls das natürliche  $\text{PGF}_{2\alpha}$  und versetzte das Inseminat von Fleischrindern mit 0,5 bzw. 5 ng Dinoprost vor der Besamung. In beiden Arbeiten konnte keine signifikante Steigerung der Trächtigkeitsraten erreicht werden. Beim Schwein waren ähnliche Versuche erfolgreicher. So konnten mehrere Autoren sowohl die Trächtigkeitsraten als auch die Wurfgrößen durch Zusatz von 5 mg Dinoprost zum Inseminat verbessern (KOS und BILKEI 2004, HORVAT und BILKEI 2003, WILLENBURG et al. 2003, PEÑA et al. 2000).

Bei der systemischen Applikation war die stimulierende Wirkung von  $\text{PGF}_{2\alpha}$  auf die glatte Muskulatur im Myometrium vorrangiges Ziel der Behandlung (KAUFFOLD et al. 2009). Außerdem soll  $\text{PGF}_{2\alpha}$  die GnRH-induzierte Freisetzung von LH und somit die Ovulationsrate von Kühen steigern (RANDEL et al. 1996). Sie konnten bei primi-

und pluriparen Zebukühen eine gesteigerte Freisetzung von LH am Tag 30 nach der Geburt nach simultaner Gabe von GnRH und PGF<sub>2α</sub> feststellen.

Durch die lokale Instillation bei der Besamung in den Uterus kann PGF<sub>2α</sub> eine zusätzliche Wirkung auf die im Inseminat enthaltenen Spermien entfalten. Die vorliegende Arbeit soll genau diesen Aspekt genauer beleuchten.

In der Literatur gibt es bereits Studien, die die Auswirkungen von PGF<sub>2α</sub> auf die Motilität von Bullenspermien *in vitro* untersuchten. Die Autoren kamen zu gegensätzlichen Ergebnissen. ABITT et al. (1977) versetzten Bullenejakulat vor dem Tiefgefrieren mit PGF<sub>2α</sub>. Die Spermien zeigten nach dem Auftauen eine schlechtere Beweglichkeit. FAYED (1996) konnte ebenfalls einen negativen Effekt nachweisen. Im Gegensatz dazu berichten bisher nur zwei Studien von RAMANA et al. (1989) und KARAHAN et al. (2006) von einer Steigerung der Motilität boviner Spermien mit Hilfe von Prostaglandinen. RAMANA et al. (1989) arbeiteten allerdings mit Ejakulaten von Büffeln und gaben außer PGF<sub>2α</sub> zusätzlich PGE<sub>2</sub> hinzu. Bei KARAHAN et al. (2006) trat ein positiver Langzeiteffekt mit Etiproston nach 24 Stunden auf. Sie konnten mit 0,25 und 0,5 mg/ml PGF<sub>2α</sub> die Anteile beweglicher Spermien im Vergleich zur Kontrolle signifikant steigern. Beide Versuche arbeiteten ohne ein CASA-System, sondern erfassten die spermatologischen Parameter subjektiv.

Beim Schwein dagegen gibt es bereits Untersuchungen, die mit einem CASA-System durchgeführt wurden. MAES et al. (2003) konnten jedoch keinen positiven Effekt von PGF<sub>2α</sub> auf die Motilität nachweisen. YESTE et al. (2008) und MÜNSTER et al. (2008) fanden dagegen einen positiven Effekt des natürlichen Prostaglandins, allerdings erst nach 72 bzw. 144 Stunden. Dieser Effekt erscheint nützlich zur Verlängerung der Lagerfähigkeit von Frischsperma. Die Lagerzeit von Frischsperma ist jedoch beim Rind von geringerem Interesse, da hier in der Praxis fast ausschließlich TG-Sperma zum Einsatz kommt.

Bisher gibt es also in der Literatur keine Untersuchungen, die mit einem CASA-System die Motilität von Bullenspermien nach Zusatz von PGF<sub>2α</sub> untersucht haben. In der vorliegenden Arbeit wird erstmalig sowohl natürliches als auch synthetisches PGF<sub>2α</sub> unter vergleichbaren Bedingungen eingesetzt. Außerdem wird die Entwicklung der Bewegungsmuster der Spermien zweistündlich über einen Zeitraum von 12 Stunden nach Prostaglandinzugabe sowie nach 24 Stunden analysiert. Besonders wichtig sind die Ergebnisse der Analysen nach 0 und 2 Stunden, um Aussagen über die Auswirkungen auf den aktiven Spermientransport treffen zu können. Spermien



haben nur ein gewisses Zeitfenster, um nach der Besamung aus dem Uterus zum Ort der Befruchtung in den Eileiter zu wandern (TÖPFER-PETERSEN 2007). Spätere Effekte wären wichtig für den Prozess der Befruchtung selbst. Langzeiteffekte, die über 24 Stunden hinausgehen, wurden in der vorliegenden Arbeit nicht betrachtet. Die in Besamungsportionen zuvor tiefgefrorenen Spermatozoen überleben im weiblichen Geschlechtstrakt nicht länger als 24 Stunden. Selbst nach einer natürlichen Bedeckung überleben Spermien beim Nutztier im Isthmus des Eileiters maximal wenige Stunden oder Tage (TÖPFER-PETERSEN 2007).

## **5.2 Diskussion der Methode**

### **5.2.1 Auswahl des Probenmaterials**

Für die Untersuchungen wurden Besamungsportionen von zehn Bullen der Rasse Deutsche Holstein aus dem Vertrieb einer lokalen Besamungsstation eingesetzt. Die praxisüblichen Mini-Pailletten á 250 µl waren in flüssigem Stickstoff bei -196 °C gelagert. Natives Ejakulat oder flüssig konserviertes Ejakulat sind beim Rind nicht praxisrelevant und wurden deshalb nicht verwendet.

Ein wesentlicher Vorteil von tiefgefrorenem Sperma liegt in seiner permanenten Verfügbarkeit. Im vorliegenden Fall wurden die Besamungsportionen von der ZBH in Alsfeld kostenlos zur Verfügung gestellt. Die Qualität war nach normalem Herstellungsprozess und Standardqualitätskontrolle gesichert. Ejakulate minderer Qualität wurden nicht eingesetzt.

Ein weiterer Vorteil war, dass der verwendete Verdünner (Bioxcell®, Firma IMV, L'Aigle, Frankreich) keine tierischen Proteine enthält und daher gut geeignet ist, um verdünntes Ejakulat mit einem CASA-System zu beurteilen. Eidotter- oder Milchverdünner enthalten dagegen Partikel, die unter dem Mikroskop eine ähnliche Größe wie die Spermienköpfe besitzen und deshalb im CASA nicht von immotilen Spermien unterschieden werden können (VERSTEGEN et al. 2002; RIJSSELAERE et al. 2003). Die durch den Verdünnungsprozess bereits eingestellte Konzentration von ca. 80 Mio. Spermien pro Milliliter ist eine weitere wesentliche Voraussetzung für eine aussagekräftige Analyse mit einem CASA-System (Abschnitt 5.2.5).

### 5.2.2 Auswahl der PGF<sub>2α</sub>-Präparate und -Konzentrationen

Ziel der Untersuchungen war außer der Erfassung der Auswirkungen des natürlichen Prostaglandins Dinoprost auf die Motilitätsparameter auch der Test der zwei synthetischen Cloprostenolpräparate, des Racemates und des Enantiomers. Dies sind die in der Buiatrik regelmäßig verwendeten Wirkstoffe.

Die Konzentration des Dinoprost wurde soweit möglich aufgrund der in der Literatur bereits beschriebenen Effekte ausgewählt. FAYED (1996) beschrieb einen negativen Effekt auf die Motilität von Bullenspermien ab einer Konzentration von 0,6 mg/ml, bereits nach 2 Stunden fiel die Motilität auf 0 %. Für die vorliegenden Untersuchungen wurde daher die höchste einzusetzende Konzentration etwas tiefer auf 0,4 mg Dinoprost pro Milliliter festgelegt. Bei 0,3 mg/ml Dinoprost konnte FAYED (1996) noch keinen Unterschied zur Kontrolle feststellen. Die höchste Konzentration in den vorliegenden Untersuchungen sollte nicht im toxischen Bereich liegen.

KARAHAN et al. (2006) konnten mit 0,25 und 0,5 mg/ml Etiproston einen positiven und ab 1 mg/ml einen negativen Langzeiteffekt nachweisen. HASHIZUME et al. (1984) und JAEGER (2005) konnten keinen Einfluss von zugesetztem PGF<sub>2α</sub> finden. Keine dieser Studien arbeitete mit den synthetischen Präparaten, die in der Praxis eingesetzt werden und in dieser Arbeit zusätzlich untersucht werden sollten.

Beim Schwein konnten MÜNSTER et al. (2008) mit 0,109 mg/ml Dinoprost einen positiven Effekt erzielen. Der Nachweis eines positiven Einflusses gelang YESTE et al. (2008) in den niedrigeren Konzentrationen von 0,025 und 0,05 mg/ml Dinoprost, bereits bei 0,125 mg/ml Dinoprost zeigten sich negative Auswirkungen. MAES et al. (2003) konnten keinen Effekt von Dinoprost auf die Motilität nachweisen. Insgesamt reagieren Eberspermien empfindlicher als Bullenspermien auf äußere Einflüsse. Das mag der Grund sein, warum beim Schwein bereits bei niedrigeren Konzentrationen Veränderungen der Motilität eintreten.

Da bei FAYED (1996) mit 0,3 mg/ml Dinoprost keine Effekte sichtbar waren, mit empfindlicheren Eberspermien in wesentlich geringeren Konzentrationen die Motilität aber doch gesteigert werden konnte, wurden die einzusetzenden Dinoprostkonzentrationen für die vorliegende Studie auf 0,1 und 0,2 mg/ml Dinoprost festgesetzt. Mit der höchsten Konzentration von 0,4 mg/ml Dinoprost war möglicherweise bereits der toxische Bereich erreicht. Diese Konzentration sollte dennoch in die Untersuchungen einbezogen werden, da außer FAYED (1996) bisher

niemand eine ähnliche Menge bei Bullenspermien eingesetzt hat und FAYED (1996) ohne CASA-System arbeitete.

Mit den synthetischen Präparaten Cloprostenol-Racemat und -Enantiomer gibt es noch weniger Erfahrungen in vitro. Lediglich CEROVSKY und VINTER (1985) und KOZUMPLIK und MARTINEK (1986) beschrieben einen negativen Einfluss von 0,005 mg/ml Cloprostenol. In beiden Fällen reduzierten sich die Anteile beweglicher Eberspermien nach Zugabe des synthetischen Prostaglandins. Da es in der Literatur bisher keine Untersuchung der Wirkung von Cloprostenol auf Bullenspermien gibt, wurden die einzusetzenden Konzentrationen von Dinoprost zu Cloprostenol im Verhältnis 50 zu 1 gewählt, entsprechend dem empfohlenen Dosierungsverhältnis beim weiblichen Rind. Je Kuh werden 25 mg Dinoprost und 0,5 mg Cloprostenol-Racemat empfohlen. Die Dosis des Enantiomers ist noch einmal um den Faktor 3 niedriger, d.h. jede Kuh bekommt 0,15 mg Cloprostenol-Enantiomer zur Brunstinduktion. Grund für die wesentlich niedrigere Dosis von Cloprostenol ist die längere Halbwertszeit (KROKER 2010) und die höhere Spezifität (GRUNERT und ZERBE 1999). Demgemäß wurden für die vorliegenden Untersuchungen die Konzentrationen 0,002, 0,004 und 0,008 mg/ml für das Cloprostenol-Racemat und 0,0006, 0,0012 und 0,0024 mg/ml für das Enantiomer festgelegt. Die von CEROVSKY und VINTER (1985) sowie KOZUMPLIK und MARTINEK (1986) gewählte Konzentration von 0,005 mg/ml Cloprostenol mit negativem Einfluss auf die Motilität lag also innerhalb dieses Bereiches.

Um die Proben mit Cloprostenol- und Dinoprostzusatz dem Volumen nach anzugleichen, wurde zusätzlich mit Lösungsmittel aufgefüllt. Auf diese Weise wurde mit den Cloprostenolpräparaten die gleiche Verdünnungsrate der Spermienkonzentration erzielt wie mit dem Dinoprostpräparat und somit die Vergleichbarkeit untereinander sichergestellt.

### **5.2.3 Analysezeitpunkte**

Bisher veröffentlichte Studien, die sich mit Bullenspermien befassten, beschränkten sich bei der Wahl ihrer Messzeitpunkte entweder auf einen kurzen Zeitraum nach der Prostaglandinzugabe oder sie untersuchten das Ejakulat an mehreren aufeinanderfolgenden Tagen.

ABBITT et al. (1977) untersuchten ihre Proben unmittelbar nach dem Auftauen und nach Ablauf von 2 Stunden. HASHIZUME et al. (1984) machten ihre Untersuchungen

ebenfalls unmittelbar nach dem Auftauen und zusätzlich nach 3 Stunden. FAYED (1996) untersuchte Proben nach 0, 1, 2 und 4 Stunden nach Prostaglandinzugabe, JAEGER (2005) nach 0 und 3 Stunden. Diese Zeiträume erscheinen passend, da Spermien nach ihrer Deponierung im Uterus bereits wenige Minuten später im Eileiter nachgewiesen werden können. Jedoch führt vielmehr ein langsamer Transport zur Etablierung einer befruchtungsfähigen Spermienpopulation im Eileiter (TÖPFER-PETERSEN 2007). Der Transport sollte innerhalb weniger Stunden nach der Besamung abgeschlossen sein, da das weibliche Immunsystem aktiviert wird und die Spermien als fremd erkennt. Im Isthmus des Eileiters sind die Spermien in der Bindung an die Schleimhaut sicher. Deshalb lag ein Hauptaugenmerk der vorliegenden Studie auf den ersten beiden Analysezeitpunkten. Ein in diesem Zeitraum gesteigerter Spermientransport könnte die Überlebensfähigkeit im weiblichen Genital erhöhen, da ein größerer Anteil der männlichen Gameten schneller im Eileiter ankommt.

KARAHAN et al. (2006) untersuchten Ejakulatproben nach 0, 1, 2 und 4 Stunden und zusätzlich noch einmal täglich an den folgenden 9 Tagen. Sie konnten nach 24 Stunden einen positiven Effekt mit 0,25 und 0,5 mg/ml Etiproston nachweisen. Für die Praxis scheint dies der einzige noch relevante Zeitpunkt zu sein, da i.d.R. einmal täglich besamt wird und die Spermien nach dem Einfrierprozess nicht länger als 24 Stunden im Eileiter überleben. Deshalb wurde dieser Zeitpunkt in der vorliegenden Arbeit als letzter Messpunkt mit aufgenommen. KARAHAN et al. (2006) wählten eine Lagertemperatur von 4 °C und setzten Frischsperma ein. RAMANA et al. (1989) wiederholen ihre Analyse erstmalig nach 24 Stunden. Das Hauptziel des Einsatzes von PGF<sub>2α</sub> in Studien, die derart späte Analysezeitpunkte betrachten, ist die Verlängerung der Lagerfähigkeit von Frischsperma, das vorwiegend beim Schwein eingesetzt wird. MÜNSTER et al. (2008) und YESTE et al. (2008) versuchten die Lagerfähigkeit bei 17 °C bzw. 15 °C durch PGF<sub>2α</sub>-Zusatz zu erhöhen. Im Gegensatz zu den genannten Arbeiten war Ziel der vorliegenden Arbeit, möglichst nahe an die Situation in vivo beim Rind anzuknüpfen.

#### **5.2.4 Lagertemperatur**

Da Spermien längere Zeiträume nur bei entsprechend niedriger Lagertemperatur überleben, hängt die zu wählende Lagertemperatur in vitro von der Wahl der Analysezeitpunkte ab.

So konnten Autoren, die sich auf einen relativ kurzen Zeitraum beschränkten, entsprechend hohe und somit annähernd physiologische Temperaturen wählen. ABBITT et al. (1977), HASHIZUME et al. (1984), FAYED (1996) und JAEGER (2005) lagerten ihre Proben nach Prostaglandinzugabe bei 35 °C bis 38 °C. RAMANA et al. (1989) und KARAHAN et al. (2006) untersuchten das Ejakulat über mehrere Tage. Entsprechend lagerten sie die Proben bei 4 °C.

Da für die vorliegende Arbeit Analysezeitpunkte von 0 bis 24 Stunden nach Auftauen festgelegt waren, sollte die Lagertemperatur der physiologischen Körpertemperatur einer Kuh möglichst nahekommen, aber mindestens ein Überleben der Spermien über 24 Stunden gewährleisten. Aufgrund der Ergebnisse des Vorversuchs wurde die Lagertemperatur auf 24 °C festgelegt. Bei höheren Temperaturen überleben die Spermien *in vitro* nicht lange genug.

### **5.2.5 Computergestützte Spermienanalyse**

DOTT und FOSTER (1979) waren die ersten, die ein CASA-System verwendeten. Seitdem haben sich die Messsysteme deutlich weiterentwickelt, vor allem die Leistung der PCs ist enorm gestiegen (HOLT et al. 1994). CASA-Systeme machen durch ihre Standardisierung die objektive Beurteilung der Spermienmotilität einer sehr großen Anzahl von Proben möglich. Außerdem reduzieren sie den Einfluss des individuellen Untersuchers. Bei der Motilitätsbeurteilung ohne CASA-System variieren die Ergebnisse zwischen 30 und 60 % (VERSTEGEN et al. 2002). Eine Untersuchung ohne CASA-System verlangt erfahrenere Untersucher und ist deshalb zu einer Einschätzung der Fertilität des Spermas nicht immer geeignet (MARTÍNEZ 2004). Mit CASA-Systemen werden objektivere Ergebnisse erzielt (KRAUSE und VIETHEN 1999). Außerdem werden neben einer Vielzahl von Samenzellen verschiedenste Parameter in relativ kurzer Zeit analysiert. Dazu gehören neben der Konzentration die Morphologie und diverse Motilitätsparameter, die die Bewegungsmuster und Geschwindigkeiten genau beschreiben (BOYERS et al. 1989).

Im Lauf der Entwicklung ist die Anzahl der kinetischen Parameter zur Beschreibung der Bewegungsmuster von Spermien, die mittels CASA-Systemen und anderer Untersuchungsmethoden (Viabilitätsanalysen, Resistenztests, etc.) erfasst werden, deutlich gestiegen. Die Morphologie und eventuelle Veränderungen nach Prostaglandinzugabe wurden in dieser Arbeit nicht betrachtet. Frühere Studien

zeigen, dass die Ergebnisse der Viabilitätsanalysen mit denen der Motilitätsanalysen korrelieren. YESTE et al. (2008) konnten toxische Effekte ab einer bestimmten Prostaglandinkonzentration gleichermaßen in der Motilitäts- und in der Viabilitätsanalyse und zusätzlich im Resistenztest nachweisen.

Die Spermienkonzentration in der Probe wurde durch das System erfasst und ihr Mittelwert berechnet. Die mittlere Spermienkonzentration aller Analysen in Versuch 2 betrug 81,76 Mio. pro Milliliter. Die Konzentration lag somit in dem für die Analyse im SpermVision® optimalen Bereich von 50 bis 100 Mio. Spermien pro Milliliter (VERSTEGEN et al. 2005). Eine weitere Auswertung der Konzentration war nicht erforderlich, da der Verdünnungsgrad in den aus dem Handel bezogenen Besamungsportionen voreingestellt ist.

Zu Beginn ihrer Entwicklung waren CASA-Systeme aufgrund vieler Fehlerquellen störanfällig. Diese Probleme wurden inzwischen weitestgehend behoben (HOLT und VAN LOOK 2004). Die Systeme arbeiten sehr präzise und die Ergebnisse lassen sich gut wiederholen (VERSTEGEN et al. 2002). Die technischen Einstellungen und standardisierten Abläufe von CASA-Systemen sind dabei sehr wichtig, zumal sich die einzelnen Geräte oft stark im Aufbau und der Software unterscheiden (VERSTEGEN et al. 2002). Die zwei wichtigsten Faktoren sind die *Frame Rate* und die Berechnungsalgorithmen einzelner Motilitätsparameter. Aufgrund der gewählten Einstellungen bzw. der systemintern vorgegebenen Eigenart der Auswertungsabläufe geht oft ein Teil der Informationen für die Beschreibung der Spermienbewegung verloren (CASTELLINI et al. 2011). Verschiedene CASA-Systeme liefern aufgrund fehlender Standardeinstellungen immer noch sehr unterschiedliche Ergebnisse (HOLT et al. 1994).

Die für die Motilitätsanalysen der vorliegenden Dissertation verwendeten Einstellungen entsprechen den vom Hersteller (Firma Minitüb, Tiefenbach) empfohlenen Analyseereinstellungen für SpermVision® in Abstimmung auf Bullenspermien.

Die *Frame Rate* ist die Anzahl der pro Sekunde ausgewerteten Bilder. Dies ist die wichtigste Einstellungsgröße. Sie wurde durch den Hersteller (Firma Minitüb, Tiefenbach) entsprechend der in bisherigen Studien verwendeten Einstellungen auf 60 Bilder pro Sekunde voreingestellt (RIJSSELAERE et al. 2003). Bei zu niedrig eingestellter *Frame Rate* können die ausgegebenen Werte der Motilitätsparameter verfälscht sein. Mit einer höheren *Frame Rate* sind die von den Spermien

zurückgelegten Wege besser rekonstruierbar. Besonders für hyperaktive Spermien sollten höhere *Frame Rates* gewählt werden. Für humane und bovine Spermien genügen niedrigere Bilderfassungsraten (CASTELLINI et al. 2011).

Weitere Einflussfaktoren sind die Umgebungstemperatur der Probe (Raumluft und umgebende Gerätschaft), die Beschaffenheit der verwendeten Messkammern und der Zeitpunkt der Analyse (DAVIS und SIEMERS 1995). Unterschiedlich tiefe Kammern liefern differierende Ergebnisse. Spermien bewegen sich ungestört in drei Dimensionen. CASA-Systeme erfassen jedoch nur zwei Dimensionen. Deshalb muss die Kammer möglichst so beschaffen sein, dass sich die Spermien nur in einer annähernd zweidimensionalen Ebene bewegen können. Die verwendeten Leja-Kammern erfüllen diese Voraussetzungen.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit relevanter sind Unterschiede in dem von Hand eingesetzten Volumen und eine uneinheitliche Verteilung der Spermien in der Kammer. Volumenunterschiede werden meist durch die bei der Beschickung entstandenen Luftblasen oder unterschiedliche Chargen des Kammerherstellers verursacht. Daher wurde nur eine einzige Charge verwendet (Chargenbezeichnung: 481115, hergestellt am 01.12.2011). Eine gleichmäßige Verteilung wurde durch besondere Sorgfalt bei der Beschickung erreicht und kontrolliert. Tauchten in einem Gesichtsfeld Luftblasen oder Bereiche mit erhöhter Spermiedichte auf, so wurde die Kammer nicht für die Messung herangezogen und eine neue Kammer verwendet. Die Beschickung erfolgte stets entsprechend den Anweisungen der Herstellerfirma. Eine uneinheitliche Verteilung der Spermien kann außerdem beim Einströmen der Probe in die Messkammer entstehen. Motile Spermien bewegen sich tendenziell zu der der Füllöffnung gegenüberliegenden Seite der Messkammer, die unbeweglichen Spermien werden passiv weitertransportiert. Um Messfehlern aufgrund dieses Phänomens entgegenzuwirken, wurden zusätzlich zur visuellen Überprüfung durch den Untersucher stark abweichende Ergebnisse in einzelnen Gesichtsfeldern automatisch von der Software gelöscht und neue Messungen durchgeführt.

Die Analysetemperatur ist ein weiterer wesentlicher Faktor, der neben der Aktivität der Spermien auch das Verdünnermedium und dessen Viskosität beeinflusst. Bioxcell® (Firma IMV, L'Aigle, Frankreich) ist ein eigelbloser Verdünner, der gut geeignet ist für die Analysen in einem CASA-System (Abschnitt 5.2.1). Die Viskosität von Bioxcell® wird jedoch ebenfalls von der Temperatur beeinflusst und kann bei falscher Wahl der Analysetemperatur zu verfälschten Ergebnissen führen

(RIJSSELAERE et al. 2003). Die Analysen für die vorliegenden Untersuchungen wurden deshalb in Übereinstimmung mit den Angaben in der Literatur bei der physiologischen Körperinnentemperatur der Kuh von 38 °C durchgeführt. Nach IGUER-OUADA und VERSTEGEN (2001) ist die Motilität bei Analysetemperaturen zwischen 37 und 38 °C signifikant höher als bei tieferen Temperaturen (30 °C). Entsprechend wurde diese Temperatur bereits in mehreren Studien verwendet (VERSTEGEN et al. 2002; VERSTEGEN et al. 2005).

Insgesamt können also mit CASA-Systemen standardisierte und objektive Analysen von Motilitätsparametern, der Morphologie und der Konzentration von Spermien durchgeführt werden. Sofern oben genannte Bedingungen eingehalten werden, liefern diese Messungen gute Ergebnisse und sind somit bestens geeignet, die vorliegende Fragestellung zu untersuchen. Es muss jedoch in weiteren Studien geklärt werden, inwieweit die aus den Befunden in vitro gewonnenen Aussagen auf die Fertilität der Spermien in vivo übertragbar sind.

### **5.2.6 Versuchsaufbau**

Wegen der hohen Anzahl von insgesamt rund 4000 Einzelproben mussten Versuchsaufbau und -ablauf vorrangig so gestaltet werden, dass die Standzeiten der Samenproben niedrig blieben. Andernfalls hätten unerwünschte Umwelteinflüsse, vor allem Temperaturschwankungen, die Spermien vermeidbar geschädigt und somit die Ergebnisse verfälscht. Aus diesen Überlegungen ergab sich der beschriebene Versuchsaufbau.

In Versuch 1 wurden zunächst für die Analysen der Kontrolle gesondert Besamungsportionen aufgetaut (Kapitel 3.5.2). In Versuch 1 wurde jeder Versuchsdurchgang in vier, in Versuch 2 in drei Auftauprozesse unterteilt.

Um einen toxischen Einfluss der in den Prostaglandinpräparaten enthaltenen Matrix auszuschließen, wurde in Versuch 1 die Kontrolle unterteilt in die Kontrolle ohne und mit Zusatz von Lösungsmittel. In den neun Durchgängen des Versuchs 1 zeigte sich, dass das Lösungsmittel die Motilitätsparameter der Bullenspermien nicht negativ beeinflusst. Mit dieser Kenntnis wurde der Aufbau für Versuch 2 umstrukturiert. Die Kontrolle mit Zusatz von Lösungsmittel wurde weggelassen und die Kontrolle ohne jeglichen Zusatz wurde in jede der drei Versuchseinheiten integriert (Kapitel 3.5.3). Somit wurde nun die jeweilige Kontrolle unter denselben Auftaubedingungen vorbereitet und aus derselben Sammelprobe entnommen. Die Vergleichbarkeit von



Kontrolle und übrigen Proben wurde so verbessert, da Differenzen im Umgang mit den Proben der Kontrolle und den Versuchsreihen ausgeschlossen werden konnten. Außerdem wurde die statistische Aussagekraft verbessert, indem in Versuch 2 Ejakulate von 10 Bullen in 30 Durchgängen untersucht wurden, gegenüber 3 Bullen in Versuch 1. Folgerichtig wurde für die abschließende Bewertung der Ergebnisse nur Versuch 2 herangezogen.

### **5.3 Diskussion der Ergebnisse**

#### **5.3.1 Vorversuch**

Der Vorversuch diente der Ermittlung einer geeigneten Lagertemperatur für die Einzelproben in den Versuchen 1 und 2. Nach dem Auftauen wurde der Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien nach der klassischen Methode der Motilitätsbeurteilung geschätzt und die Entwicklung im Verlauf von 24 Stunden beobachtet. Je ein Teil der Proben wurde bei 4, 24 und 35 °C gelagert. Unmittelbar nach dem Auftauen gab es hinsichtlich der Anteile vorwärtsbeweglicher Spermien eine Differenz zwischen der Probe des klinikeigenen Bullen und den Bullen der ZBH Alsfeld. Grund ist vermutlich eine mangelhafte Durchführung des Herstellungsprozesses, da die spermatologische Untersuchung vor dem Einfrieren keine Abweichungen von der Norm (WABERSKI und PETRUNKINA 2007) gezeigt hatte. Die Besamungsportionen der Bullen „Besancon“ und „Laudes“ der ZBH zeigten in Übereinstimmung mit den erhaltenen Produktionsdaten (Tabelle 9) nach dem Auftauen ca. 50 % vorwärtsbewegliche Spermien.

Die Spermien des klinikeigenen Bullen „Herbert“ waren zusätzlich in den zwei weiteren Verdünnern Triladyl® und Andromed® konserviert worden. Triladyl® ist ein Eidotterverdünner. Er enthält Partikel, die unter dem Mikroskop eine ähnliche Größe besitzen wie Spermienköpfe. Unter dem Lichtmikroskop kann das erfahrene Auge diese Partikel aufgrund ihrer Struktur und des fehlenden Schwanzes als solche erkennen. Das CASA-System kann sie jedoch nicht von immotilen Spermien unterscheiden (VERSTEGEN et al. 2002; RIJSSELAERE et al. 2003). Die Partikel behinderten außerdem die Spermienbewegung, da sie besonders bei 35 °C Lagertemperatur bis auf ein Vielfaches ihrer ursprünglichen Größe anwuchsen. Aus diesen Gründen waren Eidotter- oder Milchverdünner für die Versuche 1 und 2 ungeeignet. Der Verdünner Andromed® zeigte dagegen keine Nachteile gegenüber Bioxcell®.

Lagertemperaturen von 35 °C oder höher wurden im Vorversuch als ungeeignet erkannt. Die Spermatozoen überlebten nicht lange genug für die Untersuchung. Die Motilität reduzierte sich in den ersten 4 Stunden fast um die Hälfte. Ähnliche Ergebnisse finden sich in der Literatur bei Schafsspermien nach Lagerung bei 37 °C (BAG et al. 2004). Mögliche Ursachen sind der Verbrauch der Energiereserven und die Alterung der Mitochondrien. NAGY et al. (2004) wiesen bei bovinen Spermien eine Schädigung der Akrosomenmembran bei 67 % der Spermien nach einer Lagerung von 4 Stunden bei 37 °C nach. Dasselbe Phänomen konnte FAYED (1996) beobachten. In der Kontrolle ohne Zugabe von  $\text{PGF}_{2\alpha}$  hatte sich nach 4 Stunden Inkubationszeit der Anteil motiler Spermien von 50 % auf unter 30 % reduziert. Aus diesem Grund konnte keine der Studien mit Lagertemperaturen von 35 °C bzw. 37 °C nach mehr als 4 Stunden eintretende Effekte von Prostaglandinen untersuchen (ABBITT et al. 1977, HASHIZUME et al. 1984, FAYED 1996, JAEGER 2005).

Nach Lagerung bei 4 °C im Kühlschrank bzw. 24 °C im Wärmeschrank unterschieden sich in den ersten 12 Stunden die Ergebnisse nicht. Erst nach 24 Stunden waren die Motilitätsraten bei 24 °C etwas stärker abgefallen. Somit waren beide Temperaturen für die Versuche 1 und 2 geeignet. Arbeiten, die längerfristige Effekte von Prostaglandinen auf die Spermienmotilität in vitro zu erfassen suchten, wählten zur Sicherung der Überlebensdauer niedrige Temperaturen und setzten Frischsperma ein (RAMANA et al. 1989, KARAHAN et al. 2006). Da für die Fragestellung der vorliegenden Arbeit jedoch 24 Stunden ausreichten, war die Temperatur von 24 °C ein Kompromiss, um eine lange Überlebensdauer in vitro zu sichern und zugleich der physiologischen Körpertemperatur möglichst nahe zu kommen.

### **5.3.2 Versuch 1**

Die 9 Messwiederholungen in Versuch 1 ergaben keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich einiger Motilitätsparameter, zu denen sich in Versuch 2 mit 30 Messwiederholungen deutliche Signifikanzen ergaben. Diese Unterschiede können der wesentlich höheren Anzahl an Messwiederholungen und den Mängeln im Aufbau des Versuchs 1 (Abschnitt 5.2.6) zugeschrieben werden. Die Ergebnisse des Versuchs 1 sollen deshalb nicht weiter bewertet werden. Für ähnliche Fragestellungen sollte zukünftig jedoch kritisch hinterfragt werden, ob nicht die Wahl einer Kontrolle mit Zusatz des Lösungsmittels für Versuch 2 weitere aussagekräftige

Ergebnisse hervorbringen könnte. Denn einzelne Parameter wiesen in Versuch 1 mit Lösungsmittelzusatz direkt nach dem Auftauen in Ansätzen Verbesserungen auf im Vergleich zur Kontrolle ohne Lösungsmittel.

Trotz der Mängel in Versuch 1 kann konstatiert werden, dass die Matrix des Lösungsmittels keine negativen Auswirkungen auf die Motilität der Spermien hatte, da keiner der betrachteten Parameter eine signifikante Reduktion der Werte nach Zusatz des Lösungsmittels im Vergleich zur Kontrolle ohne Lösungsmittel aufwies.

### 5.3.3 Versuch 2

Die Ergebnisse aus Versuch 2 sind aus zwei Gründen fundierter als die des Versuchs 1. Erstens wurden Ejakulate von zehn Bullen in die Untersuchungen einbezogen anstelle von dreien in Versuch 1. Zum Zweiten wurde durch Integration der Kontrolle in die Versuchseinheit erreicht, dass die Proben der jeweiligen Kontrolle immer unter denselben Auftaubedingungen erwärmt und aus derselben Sammelprobe entnommen wurden wie die Einzelproben mit Prostaglandinzusatz (Kapitel 3.5.3). Diese Maßnahme erhöhte die Vergleichbarkeit mit den Kontrollen und verringerte auf Umwelteinflüsse zurückzuführende Unterschiede. Aus diesen Gründen werden die fachlichen Ergebnisse für die abschließende Bewertung nur aus Versuch 2 herangezogen.

In Versuch 2 konnten mit Zugabe des natürlichen Prostaglandins Dinoprost die Anteile beweglicher und vorwärtsbeweglicher Bullenspermien nicht gesteigert werden. Alle bisherigen Untersuchungen, welche mittels Schätzverfahren unter dem Lichtmikroskop arbeiteten und ebenfalls die Gesamtmotilität als Parameter erfassten, kamen mit Zusatz von natürlichem  $\text{PGF}_{2\alpha}$  zu Bullenspermien zu demselben Ergebnis. JAEGER (2005) und RAMANA et al. (1989) setzten 5 ng/ml zu, HASHIZUME et al. (1984) bis zu 0,1 mg/ml natürliches  $\text{PGF}_{2\alpha}$  und FAYED (1996) 0,3 mg/ml Dinoprost. In allen diesen Versuchen konnte keine positive Wirkung auf die Gesamtmotilität von Bullenspermien nachgewiesen werden. Der Einsatz des CASA-Systems SpermVision® in der vorliegenden Arbeit bestätigte diese Ergebnisse in Konzentrationen zwischen 0,1 und 0,4 mg/ml Dinoprost.

Noch höhere Konzentrationen dagegen reduzierten den Anteil beweglicher Spermien. FAYED (1996) erzielte mit 0,6 und 1,2 mg/ml Dinoprost eine Reduktion der Gesamtmotilität. ABBITT et al (1977) wiesen mit dem THAM-Salz des natürlichen

PGF<sub>2α</sub> in demselben Konzentrationsbereich bis zu 0,675 mg/ml ebenfalls einen Rückgang der Gesamtbeweglichkeit nach. Deshalb wurde Dinoprost in solch hohen Konzentrationen in der vorliegenden Arbeit nicht eingesetzt.

Bei den Strecken- und Geschwindigkeitsparametern dagegen traten Effekte nach Dinoprostzusatz auf. Vergleichbare Erkenntnisse mit Bullenspermien aus der Literatur gibt es nicht, da bisher keine Untersuchungen mit einem CASA-System durchgeführt worden sind. Für die folgenden Parameter und eingesetzten Konzentrationen liefert die vorliegende Arbeit somit neue Erkenntnisse. Direkte Vergleiche mit Studien, welche mit Eberspermien und CASA-Systemen arbeiteten, sind schwierig. Eberspermien reagieren insgesamt empfindlicher als Bullenspermien auf äußere Einflüsse. Vergleichende Studien bezüglich einer Prostaglandinwirkung auf die Spermien beider Tierarten gibt es nicht. Deshalb lassen sich Gemeinsamkeiten bzw. Unterschiede zwar feststellen, aber nicht interpretieren. Hohe Konzentrationen Dinoprost haben auf die Beweglichkeit von Eberspermien ebenfalls negative Auswirkungen. YESTE et al. (2008) fanden ab einer Konzentration von 0,125 mg/ml Dinoprost zytotoxische Effekte und einen Rückgang der Vorwärts- und Gesamtbeweglichkeit.

Ob die nach Dinoprostzusatz gesteigerte tatsächliche Weglänge (bzw. erhöhte Kurvilineare Geschwindigkeit) letztlich eine für den Befruchtungserfolg positiv zu bewertende Entwicklung darstellt, bleibt fraglich. Als Folge reduzierten sich die Werte für die Länge einer geglätteten Linie (bzw. die Mittlere Geschwindigkeit) und die Strecke zwischen Start- und Endpunkt (bzw. die Lineare Geschwindigkeit) in der Lejakammer. Durch den damit einhergehenden erhöhten Energie- und Zeitverbrauch wird der aktive Transport in vivo vom Cavum uteri zum Ort der Befruchtung scheinbar verlangsamt. Ob diese Veränderungen jedoch auch in vivo in gleicher Art und Weise auftreten, ist nicht geklärt. Viele Einflussfaktoren wie z.B. der gesteigerte passive Transport durch vermehrte Uteruskontraktionen wirken in vitro nicht. Es ist denkbar, dass beim Prozess der Befruchtung im Eileiter der gesteigerte tatsächlich zurückgelegte Weg bzw. die erhöhte Kurvilineare Geschwindigkeit einen Vorteil für das schließlich erfolgreiche Spermium darstellt. Weitere Untersuchungen sind nötig, um diese offenen Fragen zu beantworten.

Bei Eberspermien erzielten YESTE et al. (2008) mit Dinoprost ebenfalls eine Reduktion der Mittleren und der Linearen Geschwindigkeit. Die Kurvilineare Geschwindigkeit wurde im Gegensatz zu den vorliegenden Untersuchungen bei

YESTE et al. (2008) verringert. MAES et al. (2003) dagegen konnten mit Dinoprost keinen Einfluss auf die Geschwindigkeitsparameter nachweisen.

Die Parameter Linearität, Geradlinigkeit der durchschnittlichen Spermienbewegung, Auslenkung, Frequenz und Amplitude der lateralen Kopfbewegungen entwickelten sich unter Dinoprosteinfluss negativ. Bereits in der niedrigen Konzentration von 0,1 mg/ml Dinoprost traten signifikante Unterschiede zu den Kontrollen auf. Dieser Sachverhalt steht einer idealisierten schnellen und gerichteten Vorwärtsbewegung der Spermien entgegen und ist somit negativ zu bewerten. Vergleichswerte mit Bullenspermien gibt es in der Literatur nicht. Bei ihren Untersuchungen an Eberspermien kamen YESTE et al. (2008) zu ähnlichen Ergebnissen. MAES et al. (2003) konnten keine Unterschiede der Parameter Linearität und Geradlinigkeit zwischen ihren Versuchsgruppen feststellen.

Folgerichtig muss unter anderem hinterfragt werden, ob in den vorliegenden Untersuchungen zu hohe Konzentrationen  $\text{PGF}_{2\alpha}$  eingesetzt worden sind. Zugegeben wurde eine  $10^5$ - bis  $10^6$ -fach höhere Konzentration an  $\text{PGF}_{2\alpha}$  als in bovinem Ejakulat physiologisch vorkommt (Tabelle 2). Es ist zu berücksichtigen, dass bisherige Studien nur die Gesamtmotilität der Bullenspermien erfassten. Auf diese zeigte das Dinoprost keine negativen Auswirkungen (JAEGER 2005, FAYED 1996, RAMANA et al. 1989, HASHIZUME et al. 1984). Die in diesen Arbeiten eingesetzten Prostaglandinkonzentrationen wurden den vorliegenden Untersuchungen als Ausgangswerte zugrunde gelegt. Es erscheint deshalb sinnvoll, bei zukünftigen Arbeiten mit ähnlicher Fragestellung zusätzlich geringere Konzentrationen einzusetzen.

Nachdem bisher vorwiegend negative Effekte auf die Motilität von Spermien festgestellt wurden, stellt sich die Frage, ob die physiologisch im Seminalplasma enthaltenen Prostaglandine der Förderung der Motilität dienen oder doch vorwiegend andere Funktionen erfüllen. Positive Effekte auf den Befruchtungserfolg nach lokaler Anwendung von Dinoprost im Uterus in vivo während oder nach der Besamung bleiben in diesem Zusammenhang dennoch denkbar. Leider können in vitro die physiologischen Bedingungen der Gebärmutter nicht adäquat simuliert werden. Deshalb ist nicht bekannt, inwieweit Änderungen der einzelnen Motilitätsparameter in vitro auch in vivo auftreten und welche Effekte die Befruchtungsfähigkeit in vivo insgesamt positiv oder negativ beeinflussen. In vivo besteht sowohl die Möglichkeit, dass die Prostaglandine im Uterus und im Eileiter den Spermien langfristig schaden,

aber auch die Möglichkeit, dass die Spermien nach kurzer Zeit im Eileiter ankommen und sich der nachteiligen Wirkung des Dinoprost bzw. des Cloprostenol entziehen. So könnten die Prostaglandine wie in Kapitel 2.2.2.2 beschrieben primär auf die weiblichen Reproduktionsorgane wirken.

Ergänzend konnten JAEGER und DEL CURTO (2012) nachweisen, dass der Prostaglandin Gehalt in verdünntem Bullenejakulat verhältnismäßig höher ist als in frischen Ejakulaten. Offenbar wurden während des Verdünnungsprozesses Prostaglandine produziert (SHALEV et al. 1994). Die Angaben in der Literatur diesbezüglich variieren jedoch (SHALEV et al. 1994, SCHLEGEL et al. 1981). Weitere Studien sollten deshalb klären, ob Spermienzellen zur Neusynthese oder Speicherung von Prostaglandinen fähig sind. Sollte das zutreffen, müsste die vorliegende Fragestellung neu überdacht werden.

Einen weiteren Schwerpunkt sollte künftig die Erforschung des Wirkmechanismus von  $\text{PGF}_{2\alpha}$  an Spermien darstellen. Bisher konnten nur Effekte von  $\text{PGE}_1$  und  $\text{PGE}_2$  über einen Rezeptor am Spermium auf die Akrosomenreaktion und die Befruchtungsfähigkeit durch einen Calciuminflux nachgewiesen werden (SHIMIZU et al. 1998). Hinsichtlich der Wirkung der Prostaglandine der F-Reihe auf Spermien fanden SHIMIZU et al. (1998) zwar den FP-Rezeptor, aber keinen zellulären Wirkmechanismus. Außer der rezeptorvermittelten Wirkung sind andere biologische Wirksysteme denkbar. Vor allem die negativen Auswirkungen auf verschiedene Motilitätsparameter bei hoher Dinoprostkonzentration sind vermutlich nicht die Folge einer rezeptorvermittelten Wirkung, sondern einer Störung der Membranintegrität der Spermienzellen. Die physiologische Fortbewegung der Spermien im Uterus und Eileiter verläuft im Normalfall entlang eines Peptidgradienten. Auf der Oberfläche des Flagellums binden die Peptide an eine Guanylylzyklase und beeinflussen die Bewegung über einen Calciumioneneinstrom und die folgende Hyperpolarisation (KAUPP 2007). Dieser Prozess findet im Verdünnermedium nicht statt. Eine unspezifische Wirkung durch die hohe Konzentration an Prostaglandinmolekülen, die über eine Hyper- oder Depolarisation die Bewegung der Spermien beeinflusst, wäre möglich.

Schädliche Umwelteinflüsse können aufgrund der exakt gleichen Abläufe bei der Probenverarbeitung der Kontrollen und der Versuchsreihen als Ursache für die signifikant abweichenden Werte mit Prostaglandinzusatz ausgeschlossen werden. Für Schädigungen durch die Materialien der Pipettenspitzen und Probengefäße etc.

gilt dasselbe. Der Einfluss derartiger Störfaktoren wurde zusätzlich im Versuchsablauf durch die 30 Messwiederholungen stark reduziert. Der signifikante Einfluss des Faktors Zeit war zu erwarten. Das Schwinden der Energiereserven und die Alterung von Zellorganellen wie Mitochondrien (BAG et al. 2004) während der Lagerung bewirkten eine stetige Reduktion der Motilität. Zusätzlich kommt es bei immer mehr Spermien im Laufe der Zeit zu einer Schädigung der Akrosomenmembran (NAGY et al. 2004).

Neben dem natürlichen  $\text{PGF}_{2\alpha}$  sollte der Einfluss der zwei synthetischen Präparate Cloprostenol-Racemat und Cloprostenol-Enantiomer unter denselben Bedingungen untersucht werden. Das Cloprostenol bindet prinzipiell an denselben Rezeptor wie natürliches  $\text{PGF}_{2\alpha}$ . Allerdings gibt es bisher keine Untersuchungen zur Bindungsaffinität von Cloprostenol am FP-Rezeptor von Spermien und einer eventuellen Selektivität. Diese Fragestellung müsste ebenso wie der genaue Wirkmechanismus genauer erforscht werden.

KARAHAN et al. (2006) sind bisher die einzigen, die den Einfluss von synthetischem Prostaglandin in Form von Etiproston auf die Motilität von Bullenspermien untersuchten. Sie konnten einen positiven Effekt nachweisen, allerdings zu einem sehr späten Zeitpunkt. Das Etiproston ist zurzeit in Deutschland in keinem Tierarzneimittel verkehrsfähig und war nicht Gegenstand der vorliegenden Untersuchungen.

Die zwei hier eingesetzten Cloprostenolpräparate bewirkten einen deutlichen Rückgang der Anteile beweglicher und vorwärtsbeweglicher Spermien. Dieses Ergebnis entspricht den Erkenntnissen von CEROVSKY und VINTER (1985) sowie KOZUMPLIK und MARTINEK (1986). Sie beschrieben ebenfalls einen Rückgang der Motilität unter Cloprostenoleinfluss bei Eberspermien. Es gibt bisher keine vergleichbaren Studien, die den Einfluss von Cloprostenol auf Bullenspermien untersuchten und zur Auswertung ein CASA-System nutzten. Für die übrigen Motilitätsparameter nach Cloprostenolzusatz liefert die vorliegende Arbeit somit neue Resultate.

Nach Cloprostenolzusatz zeigten sich ähnliche Effekte wie mit Dinoprost. Der tatsächlich zurückgelegte Weg (DCL) und die Kurvilineare Geschwindigkeit (VCL) konnten initial gesteigert werden. Spätestens nach 8 Stunden Lagerzeit fielen die Werte in der hohen Konzentration jedoch deutlich unter die Kontrollwerte.

Gleichzeitig hatten beide Cloprostenolpräparate in den niedrigen Konzentrationen weder einen Effekt auf die Länge einer geglätteten Linie (DAP) und die Strecke zwischen Start- und Endpunkt (DSL), noch auf die entsprechenden Geschwindigkeiten (VCL und VAP). In der jeweils hohen Konzentration kam es jedoch zur Reduktion der Mittelwerte. Diese trat frühestens nach 4 Stunden Lagerung auf, also deutlich später als nach Dinoprostzusatz. Die Parameter Linearität, Geradlinigkeit und Auslenkung werden durch Cloprostenolzusatz ebenfalls in ihren Mittelwerten reduziert. Die Unterschiede zur Kontrolle fallen zwar insgesamt weniger deutlich aus als mit Dinoprost und sind nach 8 Stunden Lagerzeit nicht mehr vorhanden, aber vor allem initial kommt es zu einer signifikanten Reduktion, am stärksten in der jeweils hohen Konzentration. Gleiches gilt für die Frequenzen und die Amplituden der lateralen Kopfbewegungen, sie zeigten negative Effekte nach Cloprostenolzusatz.

Die Auswirkungen der beiden Cloprostenolpräparate auf die Motilität stehen also einer idealisierten gerichteten Fortbewegung entgegen. Im Grunde ergeben sich für das Cloprostenol sowohl als Racemat als auch als Enantiomer dieselben Fragen und Forschungsansätze wie nach Dinoprostzusatz. Zusätzlich von Interesse wäre eine Selektivität einer synthetischen Variante des  $\text{PGF}_{2\alpha}$  am FP-Rezeptor von Spermien. Die vorliegende Arbeit befasst sich nicht mit diesen Fragen. Die Ergebnisse zeigen aber, dass hohe Konzentrationen  $\text{PGF}_{2\alpha}$  die Motilität boviner Spermien negativ beeinflussen. Niedrige Konzentrationen haben dagegen wenig bis keinen Einfluss auf die mit dem System SpermVision® erfassten Motilitätsparameter.



## 6 Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Auswirkungen verschiedener Prostaglandinpräparate auf die Motilität boviner Spermien *in vitro* zu untersuchen. Für die Analysen wurden handelsübliche Minipailletten mit kryokonserviertem bovinem Ejakulat von 10 Bullen der Rasse Deutsche Holstein verwendet.

Unmittelbar nach dem Auftauen wurden Einzelproben mit jeweils drei unterschiedlichen Konzentrationen eines PGF<sub>2α</sub>-Präparates versetzt. Zum Einsatz kamen die Wirkstoffe Dinoprost, das Cloprostenol-Racemat und das Cloprostenol-Enantiomer. Anschließend wurden mit dem computergestützten System SpermVision® insgesamt 13 Motilitätsparameter erfasst. Die Messungen wurden nach 2, 4, 6, 8, 10, 12 und 24 Stunden Lagerung bei 24 °C im Wärmeschrank wiederholt. Als Kontrollen dienten jeweils Proben ohne jeglichen Zusatz. Es wurden folgende Resultate erzielt:

- Der Anteil beweglicher Spermien wurde sowohl mit dem Cloprostenol-Racemat ( $p = 0,0010$ ) als auch dem Cloprostenol-Enantiomer ( $p = 0,0003$ ) signifikant reduziert.
- Der Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien an der Gesamtzahl beweglicher Spermien verringerte sich ebenfalls signifikant nach Zusatz von Cloprostenol als Racemat ( $p = 0,0021$ ) und als Enantiomer ( $p = 0,0013$ ).
- Der tatsächlich zurückgelegte Weg (DCL) nahm nach Zusatz von Dinoprost signifikant zu ( $p = 0,0028$ ). Mit den synthetischen Prostaglandinen nahm die tatsächliche Weglänge initial ebenfalls zu ( $p < 0,0001$ ).
- Die Länge einer geglätteten Linie (DAP) wurde mit Dinoprost in der hohen Konzentration signifikant reduziert ( $p = 0,034$ ). Die synthetischen Prostaglandine Cloprostenol-Racemat ( $p = 0,011$ ) und Cloprostenol-Enantiomer ( $p = 0,013$ ) bewirkten ebenfalls eine Verkürzung der DAP in der jeweils hohen Konzentration. Der Effekt des Cloprostenols trat jedoch frühestens nach 8 Stunden Lagerzeit auf.
- Die Strecke zwischen Start- und Endpunkt (DSL) wurde durch Zugabe der hohen Konzentration Dinoprost signifikant verkürzt ( $p < 0,0001$ ). Die beiden Cloprostenolpräparate bewirkten in der hohen Konzentration ebenfalls eine Reduktion der DSL ( $p = 0,0001$ ). Initial war jedoch kein Unterschied zur Kontrolle vorhanden.

- Die Kurvilineare Geschwindigkeit (VCL) wurde nach Zugabe der drei Konzentrationen Dinoprost initial signifikant gesteigert ( $p < 0,0001$ ). Mit zunehmender Lagerzeit nahm der Konzentrationseinfluss jedoch ab. Das Cloprostenol bewirkte direkt nach dem Auftauen und nach 2 Stunden Lagerzeit sowohl als Racemat ( $p < 0,0001$ ) als auch als Enantiomer ( $p < 0,0001$ ) eine signifikante Steigerung der VCL. Diese Effekte reduzierten sich im Laufe der Versuchsdauer.
- Die Mittlere Geschwindigkeit (VAP) wurde mit Dinoprost in der hohen Konzentration signifikant verringert ( $p = 0,014$ ). Die synthetischen Prostaglandine bewirkten ebenfalls einen Rückgang in der hohen Konzentration Racemat ( $p = 0,0033$ ) und Enantiomer ( $p = 0,0036$ ) ab einer Lagerzeit von mindestens 4 Stunden.
- Die Lineare Geschwindigkeit (VSL) war nach Zusatz der hohen Konzentration Dinoprost signifikant kleiner als die der Kontrolle ( $p < 0,0001$ ). Die jeweils hohe Konzentration der synthetischen Präparate hatte die gleiche Wirkung ( $p < 0,0001$ ), wenngleich der Effekt frühestens nach 2 Stunden Lagerung eintrat.
- Die Linearität (LIN) und die Auslenkung (WOB) der Spermienbewegung, sowie die Geradlinigkeit des durchschnittlichen Bewegungsablaufes (STR) wurden durch die Zugabe der drei Konzentrationen Dinoprost signifikant reduziert ( $p < 0,0001$ ). Die Cloprostenolpräparate bewirkten in den hohen Konzentrationen ebenfalls eine Reduktion der drei Parameter LIN, WOB und STR ( $p < 0,0001$ ).
- Die Frequenz und die Amplitude der lateralen Kopfbewegungen änderten sich gegensätzlich: mit steigender Konzentration aller Prostaglandine nahmen die Frequenzen signifikant ab ( $p < 0,0001$ ), die Amplituden zu. Mit Dinoprost stiegen die Amplituden am deutlichsten ( $p < 0,0001$ ), mit dem Racemat ( $p = 0,0001$ ) und dem Enantiomer ( $p = 0,0010$ ) etwas weniger.

Fazit der Untersuchungen ist, dass der Zusatz von Prostaglandinen in hohen Konzentrationen zu aufgetauten bovinen Samenzellen in vitro einen negativen Einfluss auf die Spermienbewegung hat. Niedrige Konzentrationen haben hingegen keinen oder wenig Einfluss auf die Motilitätsparameter. Der tatsächlich zurückgelegte Weg (DCL) und die Kurvilineare Geschwindigkeit (VCL) sind die einzigen Parameter, welche in den vorliegenden Untersuchungen mit Prostaglandinzusatz

signifikant gesteigert werden konnten. Ob eine solche Steigerung auch in vivo von Vorteil ist, müsste in weiteren Studien untersucht werden.

## 7 Summary

The aim of this study was to analyze the in vitro effects of various prostaglandin preparations on the motility of bovine sperm. For the analyses cryoconserved bovine ejaculate from 10 bulls of the race German Holstein was used in commercially available insemination portions.

Immediately after thawing, the individual samples were treated each with three different concentrations of a PGF<sub>2α</sub> preparation. The active substances dinoprost, the cloprostenol-racemate and the cloprostenol-enantiomer were used. Afterwards, a total of 13 different motility parameters were measured using the computer-assisted sperm analyser SpermVision®. The measurements were repeated after 2, 4, 6, 8, 10, 12 and 24 hours of storage at 24 °C. Control samples were measured without the addition of active substances. The following results were obtained:

- The percentage of total motility was significantly reduced by the addition of the cloprostenol-racemate ( $p = 0.0010$ ), as well as the cloprostenol-enantiomer ( $p = 0.0003$ ).
- The percentage of progressive motility was also significantly reduced by the addition of cloprostenol, both as a racemate ( $p = 0.0021$ ) and as an enantiomer ( $p = 0.0013$ ).
- The distance curved line (DCL) significantly increased after addition of dinoprost ( $p = 0.0028$ ). The same results were initially obtained for the synthetic prostaglandins ( $p < 0.0001$ ).
- The distance average path (DAP) was significantly reduced by the addition of the high concentration of dinoprost ( $p = 0.034$ ). The synthetic prostaglandins cloprostenol-racemate ( $p = 0.011$ ) and cloprostenol-enantiomer ( $p = 0.013$ ) also reduced the DAP when using the high concentrations. However, the effect caused by the cloprostenols only appeared at the earliest after 8 hours of storage time.
- The distance straight line (DSL) was significantly shortened by the addition of the high concentration of dinoprost ( $p < 0.0001$ ). Both cloprostenol preparations, used in the high concentration, also led to a reduction of the DSL ( $p = 0.0001$ ). Initially however, no difference could be seen in comparison to the control.
- The curvilinear velocity (VCL) was initially increased after the addition of the three different concentrations of dinoprost ( $p < 0.0001$ ). However, the effect

caused by the dinoprost decreased with prolonged storage time. Immediately after thawing and after two hours of storage time the cloprostenol-racemate ( $p < 0.0001$ ) as well as the enantiomer ( $p < 0.0001$ ) provoked a significant increase of the VCL. This effect decreased over the time course of the experiment.

- The average path velocity (VAP) was significantly reduced ( $p = 0,014$ ) in the presence of the high concentration of dinoprost. The addition of the high concentration of the synthetic prostaglandins, cloprostenol-racemate ( $p = 0.0033$ ) and cloprostenol-enantiomer ( $p = 0.0036$ ), also resulted in a decline, beginning after a storage time of at least four hours.
- The straight line velocity (VSL) was significantly smaller after the addition of the high concentration dinoprost in comparison to the control ( $p < 0.0001$ ). The high concentration of both synthetic preparations had the same effect ( $p < 0.0001$ ), although the effect was visible after two hours of storage at the earliest.
- The linearity (LIN) and the wobble (WOB) of the sperm motility as well as the straightness (STR) were significantly reduced by the addition of the three different dinoprost concentrations ( $p < 0.0001$ ). The high concentrations of both cloprostenol preparations also provoked a reduction of the three parameters LIN, WOB and STR ( $p < 0.0001$ ).
- The beat cross frequency (BCF) and the amplitude of lateral head displacement (ALH) changed contrarily: The BCF decreased significantly ( $p < 0.0001$ ) with rising concentrations of all prostaglandins, whereas the ALH increased. The amplitudes rose most prominently in the presence of dinoprost ( $p < 0.0001$ ), slightly less in the presence of the racemate ( $p = 0.0001$ ) and least with the enantiomer ( $p = 0,0010$ ).

The results of this study demonstrate that the in vitro addition of highly concentrated prostaglandins to thawed bovine sperm cells has a negative influence on sperm motility. Lower concentrations however have no or little impact on the motility parameters. The distance curved line (DCL) and the curvilinear velocity (VCL) are the only parameters in this study which could be significantly increased by the addition of prostaglandins. Further studies would have to analyze whether such an enhancement would also be beneficial in vivo.

## 8 Literaturverzeichnis

ABBITT, B.; SEIDEL JR., G. E.; BERNDTSON, W. E. (1977):

Effect of Tris (Hydroxymethyl) Aminomethane Salt of Prostaglandin F<sub>2</sub> on Post-Thaw Motility of Bovine Spermatozoa.

Journal of Dairy Science 60, S. 1991-1993.

AITKEN, R. J.; IRVINE, S.; KELLY, R. W. (1986):

Significance of intracellular calcium and cyclic adenosine 3',5'-monophosphate in the mechanisms by which prostaglandins influence human sperm function.

Journal of Reproduction and Fertility 77 (2), S. 451–462.

AMANN, R. P. und KATZ, D. F. (2004):

Reflections on CASA after 25 years.

Journal of Andrology 25 (3), S. 317–325.

ARBEITER, K. und ARBEITER, E. (1985):

Alfaprostol zur Ovulationsauslösung während der Rosse.

Deutsche tierärztliche Wochenschrift 92, S. 87-88.

ARCHBALD, L. F.; TRAN, T.; MASSEY, R.; KLAPSTEIN, E. (1992):

Conception rates in dairy cows after timed-insemination and simultaneous treatment with gonadotrophin releasing hormone and/or prostaglandin F<sub>2</sub> alpha.

Theriogenology 37 (3), S. 723–731.

ARMSTRONG J. D.; O'GORMAN J.; ROCHE J. F. (1989):

Effects of prostaglandin on the reproductive performance of dairy cows.

Veterinary Record 125, S. 597-600.

BADER, H.; RÖHRSHEIM, C.; KOENE, M.; MEINECKE, B. (1999):

Einfluss der inseminationssynchronen PGF<sub>2</sub> alpha-Applikation auf die Trächtigkeitsrate von Stuten in einem Besamungsprogramm.

Tierärztliche Praxis, Ausgabe Grosstiere/Nutztiere 27 (1), S. 54–60.

BAG, S.; JOSHI, A.; NAQVI, S. M. K.; MITTAL, J. P. (2004):

Effect of post-thaw incubation on sperm kinematics and acrosomal integrity of ram spermatozoa cryopreserved in medium-sized French straws.

Theriogenology 62, S. 415-424.

BARKAY, J.; HARPAZ-KERPEL, S.; BEN-EZRA, S.; GORDON, S.; ZUCKERMAN, H. (1984):

The prostaglandin inhibitor effect of antiinflammatory drugs in the therapy of male infertility.

Fertility and Sterility 42 (3), S. 406–411.

BARTKE, A.; KUPFER, D.; DALTERIO, S. (1976):

Prostaglandins inhibit testosterone secretion by mouse testes in vitro.

Steroids 28 (1), S. 81-88.

BERGSTRÖM, S.; RYHAGE, R.; SAMUELSSON, B.; SJÖVALL, J. (1962):

The Structure of Prostaglandin E1, F1 and F2.

Acta Chemica Scandinavica 16, S. 501-502.

BERGSTRÖM, S.; DANIELSSON, H.; KLENBERG, D.; SAMUELSSON, B. (1964):

The enzymatic conversion of essential fatty acids into prostaglandins.

Journal of Biological Chemistry 239: S. 4006-4008.

BERGSTRÖM, S.; CARLSON, L. A.; WEEKS, J. R. (1968):

The prostaglandins: a family of biologically active lipids.

Pharmacological Reviews 20 (1), S. 1-48.

BERRY, D. P.; BUCKLEY, F.; DILLON, P.; EVANS, R. D.; RATH, M.; VEERKAMP, R. F. (2003):

Genetic relationships among body condition score, body weight, milk yield, and fertility in dairy cows.

Journal of Dairy Science 86 (6), S. 2193-2204.

BOYER, S. P.; DAVIS, R. O.; KATZ, D. F. (1989):

Automated Semen Analysis.

Current Problems in Obstetrics, Gynecology, and Fertility 12, S. 167-200.

BRAUN, N. S.; HEATH, E.; CHENAULT, J. R.; SHANKS, R. D.; HIXON, J. E. (1988):

Effects of prostaglandin F2 alpha on degranulation of bovine luteal cells on days 4 and 12 of the estrous cycle.

American Journal of Veterinary Research 49 (4): S. 516–519.

BRUMMER, H. C. und GILLESPIE, A. (1972):

Seminal prostaglandins and fertility.

Clinical Endocrinology (Oxf) 1 (4), S. 363–368.

BURKAM, L. J. (1984):

Characterization of hyperactivated motility by human spermatozoa during capacitation: A comparison of fertile and oligozoospermic sperm population.

Archives of Andrology 13, S. 153.

BUSCH, W. (2007):

Insemination.

In: BUSCH, W. und WABERSKI, D. (Hrsg.): Künstliche Besamung bei Haus- und Nutztieren.

3. Auflage, Schattauer-Verlag Stuttgart, S. 168-188.

BYGDEMAN, M.; BREMME, K.; GILLESPIE, A.; LUNDSTRÖM, V. (1979):

Effects of the prostaglandins on the uterus. Prostaglandins and uterine contractility.

Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica, Supplement 87, S. 33–38.

BYGDEMAN, M.; FREDRICSSON, B.; SVANBORG, K.; SAMUELSSON, B. (1970):

The relation between fertility and prostaglandin content of seminal fluid in man.

Fertility and Sterility 21 (8), S. 622–629.



BYGDEMAN, M. Und ELIASSON, R. (1969):

Distribution of prostaglandins, fructose and acid phosphatase in human seminal plasma.

Andrologia 1 (1), S. 5–10.

BYGDEMAN, M. und HOLMBERG, O. (1966):

Isolation and identification of prostaglandins from ram seminal plasma. Prostaglandins and related factors 55.

Acta Chemica Scandinavica 20 (8), S. 2308–2310.

BYGDEMAN, M. und SAMUELSSON, B. (1966):

Analyses of prostaglandins in human semen. Prostaglandins and related factors 44.

Clinica Chimica Acta 13 (4), S. 465–474.

BYGDEMAN, M. und SAMUELSSON, B. (1964):

Quantitative determination of prostaglandins in human semen.

Clinica Chimica Acta 10, S. 566–568.

CASTELLINI, C.; DAL BOSCO, A.; RUGGERI, S.; COLLODEL, G. (2011):

What is the best frame rate for evaluation of sperm motility in different species by computer-assisted sperm analysis?

Fertility and Sterility 96 (1), S. 24-27.

CENEDELLA, R. J. (1975):

Prostaglandins and male reproductive physiology.

Advances in Sex Hormones Research 1, S. 325–358.

CEROVSKÝ, J. und VINTER, P. (1985):

The effect of a synthetic analogue  $\text{PGF}_{2\alpha}$  -Oestrophan Spofa- on boar spermatozoa in diluted semen stored for a short period.

Ziv Vým 30, S. 237-244.

CHENG, H.; ALTHOUSE, G. C.; HSU, W. H. (2003):

Concentrations of endogenous prostaglandin F2alpha in boar semen and effect of a 72-h incubation period on exogenous prostaglandin F2alpha concentration in extended boar semen.

Prostaglandins & Other Lipid Mediators 70 (3-4), S. 285–290.

CHENG, H.; ALTHOUSE, G. C.; HSU, W. H. (2001):

Prostaglandin F2 added to extended boar semen at processing elicits in vitro myometrial contractility after 72 hours of storage.

Theriogenology 55, S. 1901-1906.

CLARK, J. D.; SCHIEVELLA, A. R.; NALEFSKI, E. A.; LIN, L. L. (1995):

Cytosolic phospholipase A2.

Journal of Lipid Mediators and Cell Signalling 12 (2-3), S. 83–117.

CLAUS, R.; DIMMICK, M. A.; GIMENEZ, T.; HUDSON, L. W. (1992):

Estrogens and prostaglandin F2alpha in the semen and blood plasma of stallions.

Theriogenology 38 (4), S. 687–693.

CLAUS, R.; HOANG-VU, C.; ELLENDORFF, F.; MEYER, H. D.; SCHOPPER, D.; WEILER, U. (1987):

Seminal oestrogens in the boar: origin and functions in the sow.

Journal of Steroid Biochemistry 27 (1-3), S. 331–335.

COCKRILL, J. R.; MILLER Jr., E. G.; KURZROK, R. (1935):

The substance in human seminal fluid affecting uterine muscle.

American Journal of Physiology 112 (4), S. 577-580.

COHEN, M. S.; COLIN, M. J.; GOLIMBU, M.; HOTCHKISS, R. S. (1977):

The effects of prostaglandins on sperm motility.

Fertility and Sterility 28 (1), S. 78–85.

COLEMAN, R. A.; SMITH, W. L.; NARUMIYA, S. (1994):

International Union of Pharmacology Classification of Prostanoid Receptors: Properties, Distribution, and Structure of the Receptors and their Subtypes. *Pharmacological Reviews* 46 (2), S. 205-229.

COLLIER, J. G.; FLOWER, R. J.; STANTON, S. L. (1975):

Seminal prostaglandins in infertile men. *Fertility and Sterility* 26 (9), S. 868–871.

CRUZ, L. C.; DO VALLE, E. R.; KESLER, D. J. (1997):

Effect of prostaglandin F<sub>2</sub> alpha-and gonadotropin releasing hormone-induced luteinizing hormone releases on ovulation and corpus luteum function of beef cows. *Animal Reproduction Science* 49 (2-3), S. 135–142.

DAVID, G.; SEVERS, S.; JOUANNET, P. (1981):

Kinematic of human spermatozoa. *Gamete Research* 4, S. 83-86.

DAVIS, R. O. und SIEMERS, R. J. (1995):

Derivation and reliability of kinematic measures of sperm motion. *Journal of Fertility and Sterility* 7 (4), S. 857-869.

DIMOV, V. und GEORGIEV, G. (1977):

Ram semen prostaglandin concentration and its effect on fertility. *Journal of Animal Science* 44 (6), S. 1050–1054.

DORP, D. A. van; BEERTHUIS, R. K.; NUGTEREN, D. H.; VONKEMAN, H. (1964):

The biosynthesis of prostaglandins. *Biochemica et Biophysica Acta* 90, S. 204-207.

DOTT, H. M. und FOSTER, G. C. A. (1979):

The estimation of sperm motility in semen, on a membrane slide, by measuring the area change frequency with an image analysing computer.

Journal of Reproduction and Fertility 55, S. 161-166.

EBERT, U.; HERLING, A. W. ; POTSCHKA, H. (2009):

Endokrinpharmakologie.

In: FREY, H.-H. und LÖSCHER, W. (Hrsg.): Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin.

3. Auflage, Enke-Verlag Stuttgart, S. 335-379.

EDQVIST, S.; EINARSSON, S.; GUSTAFSSON, B. (1975):

Effect of prostaglandin F<sub>2</sub> alpha on sperm transport in the reproductive tract of the ewe.

Acta Veterinaria Scandinavica 16 (1), S. 149–151.

EIK-NES, K. B. (1964):

On the relationship between testicular blood flow and secretion of testosterone in anesthetized dogs stimulated with human chorionic gonadotrophin.

Canadian Journal of Physiology and Pharmacology 42, S. 671–677.

EILER, H.; BYRD, W. H.; HOPKINS, F. M. (1989):

Uterokinetic activity of fenprostalene (a prostaglandin F<sub>2</sub>alpha analog) in vivo and in vitro in the bovine.

Theriogenology 32 (5), S. 755–765.

ELIASON, R. (1959):

Studies on prostaglandin. Occurrence, formation and biological actions.

Acta Physiologica Scandinavica 46, Supplement 158, S. 1-73.

ESKIN, B. A.; AZARBAL, S.; SEPIC, R.; SLATE, W. G. (1973):

In vitro responses of the spermatozoa-cervical mucus system treated with prostaglandin (F<sub>2</sub>a).

Obstetrics & Gynecology 41 (3), S. 436–439.

ESPEY, L. L. (1994):

Current status of the hypothesis that mammalian ovulation is comparable to an inflammatory reaction.

Biology of Reproduction (50), S. 233-238.

ESTIENNE, M. J. und HARPER, A. F. (2004):

Semen characteristics and libido in boars treated repeatedly with PGF<sub>2</sub>alpha.

Journal of Animal Science 82 (5), S. 1494–1498.

EULER, U. S. von (1934):

Zur Kenntnis der pharmakologischen Wirkungen von Nativsekreten und Extrakten männlicher accessorischer Geschlechtsdrüsen.

Archiv für Experimentelle Pathologie und Pharmakologie 175: S. 78-81.

EULER, U.S. von (1936):

On the specific vaso-dilating and plain muscle stimulating substances from accessory genital glands in man and certain animals (prostaglandin and vesiglandin).

Journal of Physiology (London) 88 (2), S. 213–234.

FAYED, A. H. (1996):

Effect of prostaglandin F<sub>2</sub> alpha and methylxanthines on enzymic release of bull epididymal spermatozoa in vitro.

Contraception 53 (3), S. 181–184.

FRUNGIERI, M. B. ; GONZALEZ-CALVAR S. I.; PARBORELL, F.; ALBRECHT, M. ;  
MAYERHOFER, A.; CALANDRA R. S. (2006):

Cyclooxygenase-2 and Prostaglandin F<sub>2</sub> in Syrian Hamster Leydig Cells: Inhibitory Role on Luteinizing Hormone/Human Chorionic Gonadotropin-Stimulated Testosterone Production.

Endocrinology 147 (9), S. 4476-4485.

GABRIEL, H. G.; WALLENHORST, S.; DIETRICH, E.; HOLTZ, W. (2011):

The effect of prostaglandin F(2 $\alpha$ ) administration at the time of insemination on the pregnancy rate of dairy cows.

Animal Reproduction Science 123 (1-2), S. 1–4.

GAYTÁN, F.; TARRADAS, E.; BELLIDO, C.; MORALES, C.; SÁNCHEZ-CRIADO, J. E. (2002):

Prostaglandin E1 Inhibits Abnormal Follicle Rupture and Restores Ovulation in Indomethacin-Treated Rats.

Biology of Reproduction 67, S. 1140–1147.

GEROZISSIS, K.; JOUANNET, P.; SOUFIR, J. C.; DRAY, F. (1982):

Origin of prostaglandins in human semen.

Journal of Reproduction and Fertility (65), S. 401-404.

GINTHER, O. J. (1967):

Local utero-ovarian relationships.

Journal of Animal Science 26 (3), S. 578–585.

GOFF, A. K. (2004):

Steroid hormone modulation of prostaglandin secretion in the ruminant endometrium during the estrous cycle.

Biology of Reproduction 71 (1), S. 11–16.

GOFF, A. K.; BASU, S.; KINDAHL, H. (1984):

Measurements of 11-ketotetranor PGF metabolites: an approach for monitoring prostaglandin F2 release in the mare.

Theriogenology 21 (6), S. 887-896.

GOLDBLATT, M.W. (1933):

A depressor substance in seminal fluid.

Society of Chemical Industry 52, S. 1056-1057.

GOTTREICH, A.; HAMMEL, I.; YOGEV, L.; TERKEL, J. (1996):

Quantitative microscopic changes in the mole rat's accessory sex organs during an annual cycle.

The Anatomical Record 246 (2), S. 231–237.

GRANSTRÖM, E. und KINDAHL, H. (1982):

Species differences in circulating prostaglandin metabolites. Relevance for the assay of prostaglandin release.

Biochemica et Biophysica Acta 713 (3), S. 555–569.

GRUNERT, E. und ZERBE, H. (1999):

Grundlagen der Hormontherapie.

In: GRUNERT, E. und DE KRUIF, A. (Hrsg.): Fertilitätsstörungen beim weiblichen Rind.

3. Auflage, Paul Parey-Verlag Berlin, S. 159-182.

GUSTAFSSON, B.; EDQVIST, S.; EINARSSON, S.; LINGE, F. (1975):

The fertility of deep-frozen ram semen supplemented with PGF 2 alpha.

Acta Veterinaria Scandinavica 16 (3), S. 468–470.

HANDLER, J. und AURICH, J. E. (2009):

Physiologie des Sexualzyklus der Stute.

In: AURICH, C. (Hrsg.): Reproduktionsmedizin beim Pferd.

2. Auflage, Paul Parey-Verlag Stuttgart, S. 15-29.

HASHIZUME, T.; OTSUKA, T.; KANEMATSU, S. (1984):

Effect of PGF<sub>2α</sub> on the motility and the metabolism of bull and boar spermatozoa.

Japanese Journal of Animal Reproduction 30 (3), S. 159-161.

HAWK, H. W.; COOPER, B. S.; CONLEY, H. H. (1982):

Effect of acetylcholine, prostaglandin F2 alpha and estradiol on number of sperm in the reproductive tract of inseminated rabbits.

Journal of Animal Science 55 (4), S. 891–900.

HAWK, H. W. (1975):

Hormonal control of changes in the direction of uterine contractions in the estrous ewe.

Biology of Reproduction 12, S. 423-430.

HAWKINS, D. F. und LABRUM, A. H. (1961):

Semen prostaglandin levels in fifty patients attending a fertility clinic.

Journal of Reproduction and Fertility 2, S. 1–10.

HAYASHI, S.; NODA, Y.; MORI, T. (1988):

Analysis of the role of prostaglandins in the fertilization process.

European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology 29 (4), S. 287–297.

HEDQUIST, P. und VON EULER U.S (1972):

Prostaglandin-induced neurotransmission failure in the field-stimulated, isolated vas deferens.

Neuropharmacology 11, S. 177-187.

HIRSBRUNNER, G.; KNUTTI, B.; KÜPFER, U.; BURKHARDT, H.; STEINER, A. (2003):

Effect of prostaglandin E2, DL-cloprostenol, and prostaglandin E2 in combination with D-cloprostenol on uterine motility during diestrus in experimental cows.

Animal Reproduction Science 79 (1-2), S. 17–32.

HOLT, W. V.; WATSON, P.; CURRY, M.; HOLT C. (1994):

Reproducibility of computer-aided semen analysis: comparison of five different systems used in a practical workshop.

Journal of Fertility and Sterility 62 (6), S. 1277-1282.

HOLT, W. V. und VAN LOOK, K. J. W. (2004):

Concepts in sperm heterogeneity, sperm selection and sperm competition as biological foundations for laboratory tests of semen quality.



Journal of Reproduction 127, S. 527-535.

HORVAT, G. und BILKEI, G. (2003):

Exogenous PGF 2 alpha at time of ovulation improves reproductive efficiency in repeat breeder sows.

Theriogenology 59, S. 1479-1484.

IGUER-OUADA, M. und VERSTEGEN, J. P. (2001):

Evaluation of the "Hamilton Thorn computer-based automated system" for dog semen analysis.

Theriogenology 55 (3), S. 733-749.

JAEGER, J. R. und DEL CURTO, T. (2012):

Endogenous prostaglandin F<sub>2α</sub> concentrations in bovine whole semen, seminal plasma, and extended semen.

Theriogenology 78, S. 369-375.

JAEGER, J. R. (2005):

Quantities of Prostaglandins in Whole and Extended Bovine Semen and Their Potential Effect on Fertility Following Insemination.

Oregon State University, Dissertation.

JOHNSON, J. M. und ELLIS L. C. (1977):

The histochemical localization of prostaglandin synthetase activity in reproductive tract of the male rat.

Journal of Reproduction and Fertility 51, S. 17-22.

JONSSON, H. T.; MIDDLEITCH, B. S.; DESIDERIO, D. M. (1975):

Prostaglandins in human seminal fluid: two novel compounds.

Science 187 (4181), S. 1093–1094.

JOSEPH, T.; ZALENSKAYA, I. A.; SAWYER, L. C.; CHANDRA, N.; DONCEL, G. F. (2013):

Seminal Plasma Induces Prostaglandin-Endoperoxide Synthase (PTGS) 2 Expression in Immortalized Human Vaginal Cells: Involvement of Semen Prostaglandin E2 in PTGS2 Upregulation.  
Biology of Reproduction 88 (1): 13, S. 1-10.

JOYCE, C. L.; NUZZO, N. A.; WILSON, L.; ZANEVELD, L. J. (1987):

Evidence for a role of cyclooxygenase (prostaglandin synthetase) and prostaglandins in the sperm acrosome reaction and fertilization.  
Journal of Andrology 8 (2), S. 74–82.

KANAI, N.; LU, R.; SATRIANO, J. A.; BAO, Y.; WOLKOFF, A. W.; Schuster, V. L. (1995):

Identification and characterization of a prostaglandin transporter.  
Science 268 (5212), S. 866–869.

KARAHAN, I.; TÜRK, G.; GÜR, S. (2006):

In Vitro Effects of Prostaglandin F<sub>2α</sub> and Metamizol on the Motility of Diluted Bull Semen.  
Turk Journal of Veterinary and Animal Science 30, S. 271-278.

KAUFFOLD, J.; GOMMEL, R.; FAILING, K.; BEYNON, N.; WEHREND, A. (2009):

Postinsemination treatment of primiparous and multiparous cows with cloprostenol failed to affect ovulation and pregnancy rate in dairy cattle.  
Theriogenology 72 (5), S. 741–746.

KAUPP, U. B. (2007):

Chemotaxis in Spermien, Der chemische Lockruf der Eizelle.  
Biospektrum 02, S. 146-149.

KELLY, R. W.; TAYLOR, P. L.; HEARN, J. P.; SHORT, R. V.; MARTIN, D. E.; MARSTON, J. H. (1976):

19-Hydroxyprostaglandin E1 as a major component of the semen of primates.

Nature 260 (5551), S. 544–545.

KERR, J.F.R.; WYLLIE, A.H.; CURRIE, A.R. (1972):

Apoptosis: A basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics.

British Journal of Cancer 26, S. 239-244.

KIETZMANN, M. und BÄUMER, W. (2009):

Pharmakologie der Entzündung und der Allergie.

In: FREY, H.-H. und LÖSCHER, W. (Hrsg.): Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin.

3. Auflage, Enke-Verlag Stuttgart, S. 380-408.

KINDAHL, H. (1980):

Prostaglandin biosynthesis and metabolism.

Journal of American Veterinary Medicine Association, 176 (10): S. 1173-1177.

KIRKWOOD, R. N.; DE RENSIS, F. ; SILVA, P.; GHERPELLI, M.; ALEGRE, B. ; DOMINGUEZ, J. C. (2007):

Effect of cloprostenol treatment at artificial insemination on sow fertility.

Reproduction in Domestic Animals 42 (1), S. 26–28.

KJÆSTAD, H.; ROPSTAD, E.; BERG, K. A. (1993):

Evaluation of spermatological parameters used to predict the fertility of frozen bull semen.

Acta Veterinaria Scandinavica 34 (3), S. 299-303.

KNISS, D. A. (1999):

Cyclooxygenases in reproductive medicine and biology.

Journal of the Society for Gynecologic Investigation 6 (6), S. 285–292.

KNUTH, U. A.; KÜHNE, J.; CROSBY, J.; BALS-PRATSCH, M.; KELLY, R. W.; NIESCHLAG, E. (1989):

Indomethacin and oxaprozin lower seminal prostaglandin levels but do not influence sperm motion characteristics and serum hormones of young healthy men in a placebo-controlled double-blind trial.

Journal of Andrology 10 (2), S. 108–119.

KÖNIGSSON, K.; GUSTAFSSON, H.; KINDAHL, H. (2002):

15-Ketodihydro-PGF<sub>2α</sub>, Progesterone and Uterine Involution in Primiparous Cows with Induced Retained Placenta and Post-Partial Endometritis Treated with Oxytetracycline and Flunixin.

Journal of Reproduction in Domestic Animals 37, S. 43-51.

KOS, M. und BILKEI, G. (2004):

Prostaglandin F<sub>2α</sub> supplemented semen improves reproductive performance in artificially inseminated sows.

Animal Reproduction Science 80 (1-2), S. 113–120.

KOZUMPLIK, J. und MARTINEK, J. (1986):

The effect of Oestrophan Spofa (synthetic analog of prostaglandin F<sub>2</sub> alpha) added to the insemination dose on pregnancy and fertility in sows.

Veterinary Medicine (Prague) 31 (4), S. 227-232.

KRAUSE, W. und VIETHEN, G. (1999):

Quality assessment of computer-assisted semen analysis (CASA) in the andrology laboratory.

Andrologia 31, S. 125-129.

KROKER, R. (2010):

Beeinflussung der Uterusfunktion.

In: LÖSCHER, W.; UNGEMACH, F. R.; KROKER, R. (Hrsg.):  
Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren.

8. Auflage, Enke-Verlag Stuttgart, S. 202-205.

KURZROK, R. und LIEB, C.C. (1930):

Biochemical Studies of Human Semen. II. The Action of Semen on the Human Uterus.

Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine 28, S. 268-272.

LAMB, G. C.; STEVENSON, J. S.; KESLER, D. J.; GARVERICK, H. A.; BROWN, D. R.; SALFEN, B. E. (2001):

Inclusion of an intravaginal progesterone insert plus GnRH and prostaglandin F<sub>2α</sub> for ovulation control in postpartum suckled beef cows.

Journal of Animal Science 79, S. 2253-2259.

LANGENDIJK, P.; BOUWMAN, E. G.; SOEDE, N. M.; TAVERNE, M. A.; KEMP, B. (2002a):

Myometrial activity around estrus in sows: spontaneous activity and effects of estrogens, cloprostenol, seminal plasma and clenbuterol.

Theriogenology 57 (5), S. 1563–1577.

LANGENDIJK, P.; BOUWMAN, E. G.; KIDSON, A.; KIRKWOOD, R. N.; SOEDE, N. M.; KEMP, B. (2002b):

Role of myometrial activity in sperm transport through the genital tract and in fertilization in sows.

Reproduction 123 (5), S. 683–690.

LEDWOZYW, A.; PRUSZKOWSKA, R.; KADZIOLKA, A. (1986):

Isolation and identification of prostaglandins of the E and F series in testes and semen of lowland-black-white breed of bulls.

Acta Physiologica Hungarica 68 (1), S. 11–17.

LEWIS, G. S. (2003):

Steroid regulation of uterine resistance to bacterial infection in livestock.

Reproductive Biology and Endocrinology 1: S. 117-124.

LINDELL, J.O. und KINDAHL, H. (1983):

Exogenous prostaglandin F2 alpha promotes uterine involution in the cow.

Acta Veterinaria Scandinavica 24 (3), S. 269–274.

LÓPEZ-GATIUS, F.; YÁNIZ, J. L.; SANTOLARIA, P.; MURUGAVEL, K.; GUIJARRO, R.; CALVO, E.; LÓPEZ-BÉJAR, M. (2004):

Reproductive performance of lactating dairy cows treated with cloprostenol at the time of insemination.

Theriogenology 62 (3-4), S. 677–689.

LÖSCHER, W. (2010):

Pharmaka mit Wirkung auf periphere Mediatoren.

In: LÖSCHER, W.; UNGEMACH, F. R.; KROKER, R. (Hrsg.):  
Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren.

8. Auflage, Enke-Verlag Stuttgart, S. 57-63.

LUCY, M. C. (2007):

Fertility in high-producing dairy cows: reasons for decline and corrective strategies for sustainable improvement.

Reproduction and Fertility Supplement 64, S. 237-254.

MAES, D. G. D.; MATEUSEN, B.; RIJSSELAERE, T.; DE VliegHER, S.; VAN SOOM, A.; DE KRUIF, A. (2003):

Motility characteristics of boar spermatozoa after addition of prostaglandin F2 $\alpha$ .

Theriogenology 60 (8), S. 1435–1443.

MAI, J. und KINSELLA, J. E. (1980):

Prostaglandin E1 and E2 in bovine semen: quantification by gas chromatography.

Prostaglandins 20 (2), S. 187–197.

MANN, T. und LUTWAK-MANN, C. (1981):

Male Reproductive Function and Semen.

1. Auflage, Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, S. 312-319.

MARTÍNEZ, A. I. PEÑA (2004):

Canine fresh and cryopreserved semen evaluation.

Animal Reproduction Science 82-83, S. 209-224.

MORRISON, D. G.; CHANDLER, J. E.; CHANDLER, L. S.; RADNITZ, A. F.;  
WARNER, M. B. (1988):

Effect of prostaglandin  $F_{2\alpha}$  at insemination on sperm cell numbers and pregnancy rate in beef cattle.

Theriogenology 30 (1), S. 109-118.

MORTON, J. M.; ALLAN, J. D.; HARRIS, D. J.; MILLER, G. T. (1992):

Failure of a single postpartum prostaglandin treatment to improve the reproductive performance of dairy cows.

Australian Veterinary Journal 69, S. 158-160.

MOSKOVITZ, B.; MUNICHOR, M.; LEVIN, D. R. (1987):

Effect of diclofenac sodium (Voltaren) and prostaglandin E<sub>2</sub> on spermatogenesis in mature dogs.

European Urology 13 (6), S. 393–396.

MÜNSTER, A.; HENZE, C.; KRIETER, J. (2008):

Einfluss von Prostaglandin  $F_{2\alpha}$  (PGF $_{2\alpha}$  in Form von Dinolytic®) auf die Motilität von Eberspermatozoen unter Berücksichtigung des MHS-Genstatus der Probanden.

Züchtungskunde 80 (4), S. 279–290.

NAAKTGEBOREN, C.; VAN DER WEYDEN, G. C.; KLOPPER, P. J.; KROON, C. H.; SCHOOF, A. G.; TAVERNE, M. A. (1973):

Electrophysiological observations of uterine motility during the oestrous cycle in sheep.

Journal of Reproduction and Fertility 35 (3), S. 511–518.

NAGY, S.; HALLAP, T.; JOHANNISSON, A.; RODRIGUEZ-MARTINEZ, H. (2004):  
Changes in plasma membrane and acrosome integrity of frozen-thawed bovine spermatozoa during a 4h incubation as measured by multicolor flow cytometry.  
Animal Reproduction Science 80, S. 225-235.

NARUMIYA, S. und FITZGERALD, G. A. (2001):  
Genetic and pharmacological analysis of prostanoid receptor function.  
Journal of Clinical Investigation 108 (1), S. 25–30.

NARUMIYA, S.; SUGIMOTO, Y.; USHIKUBI, F. (1999):  
Prostanoid receptors: structures, properties, and functions.  
Physiological Reviews 79 (4), S. 1193–1226.

NUGTEREN, D.H.; VAN DORP, D. A.; BERGSTRÖM, S.; HAMBERG, M.; SAMUELSSON, B. (1966):  
Absolute configuration of the prostaglandins.  
Nature (London) 212: S. 38-39.

PANDUR I. D. und PACALA N. (2012):  
Sperm Motility after the Addition of Prostaglandin F<sub>2α</sub> to the Landrace Boar Diluted Semen.  
Animal Science and Biotechnologies 45 (1), S. 222-224.

PATIL, R.K.; SINHA, S.N.; EINARSSON, S.; SETTERGREN, I. (1980):  
The effect of prostaglandin F<sub>2</sub> alpha and oxytocin on bovine myometrium in vitro.  
Nordisk Veterinaermedicin 32 (11), S. 474–479.

PATTANIK, J. B.; MOHANTY, D. N.; DAS, S.; BARIK, A. K.; MISHRA P. C. (2010):  
Modulation of conception rate by exogenous application of PGF<sub>2α</sub> in dairy cattle.



Indian Journal of Field Veterinarians 6 (2), S. 11-14.

PEÑA, F. J.; GIL, M. C.; PEÑA, F. (2001):

Effect of vulvomucosal injection of D-cloprostenol at weaning and at insemination on reproductive performance of sows during the low fertility summer season under field conditions.

Animal Reproduction Science 68, S. 77-83.

PEÑA, F. J.; DOMÍNGUEZ, J. C.; PELÁEZ, J.; ALEGRE, B. (2000):

Intrauterine infusion of PGF(2alpha) at insemination enhances reproductive performance of sows during the low fertility season.

Veterinary Journal 159 (3), S. 259–261.

PEÑA, F. J.; DOMÍNGUEZ, J. C.; ALEGRE, B.; PELÁEZ, J. (1998):

Effect of vulvomucosal injection of PGF2alpha at insemination on subsequent fertility and litter size in pigs under field conditions.

Animal Reproduction Science 52 (1), S. 63–69.

PETZOLDT, R. (2001):

Akzessorisches Sekret.

In: BUSCH, W. und HOLZMANN, A. (Hrsg.): Veterinärmedizinische Andrologie.

1. Auflage, Schattauer-Verlag Stuttgart, S. 55-66.

POULOS, A.; VOGLMAYR, J. K.; WHITE, I. G. (1973):

Phospholipid changes in spermatozoa during passage through the genital tract of the bull.

Biochemica et Biophysica Acta 306 (2), S. 194–202.

POYSER, N. L. (1973):

The physiology of prostaglandins.

Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 2 (3), S. 393–410.

POYSER, N. L. (1974):

Some aspects of prostaglandins in reproduction.

Biochemical Society Transactions, 552st Meeting St. Andrews, S. 1196-1200.

PRINZEN, R.; ALLGAYER, F.; BARTZ, U.; HUBER, E. (1991):

Effekte von Prostaglandin PGF<sub>2α</sub> auf das Konzeptionsergebnis von Färsen und Kühen.

Tierärztliche Umschau 46, S. 27-35.

PURSLEY, J. R.; MEE, M. O.; WILTBANK M. C. (1995):

Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF<sub>2α</sub> and GnRH.

Theriogenology 44, S. 915.

RAMANA, G. V.; REDDY, B. B.; KESAVA REDDY, K.; MURTHY, A. S. N.; HARANATH G. B. (1989):

Effect of Prostaglandins on Characteristics of Buffalo Semen at 4 °C.

Animal Reproduction Science 21, S. 87-91.

RANDEL, R. D.; LAMMOGLIA, M. A.; LEWIS, A. W.; NEUENDORFF, D. A.; GUTHRIE, M. J. (1996):

Exogenous PGF(2)alpha enhanced GnRH-induced LH release in postpartum cows.

Theriogenology 45 (3), S. 643-654.

REDDY, B. B.; MURTHY A. S. N.; RAO V. S. N.; RAO, P. N.; RAO K. S. (1982):

Seminal prostaglandins E2 and F2 alpha in Murrah buffalo bulls.

Journal of Nuclear Agriculture and Biology 2, S. 126-127.

RIJSSELAERE, T.; VAN SOOM, A.; MAES, D.; DE KRUIF, A. (2003):

Effect of technical settings on canine semen motility parameters measured by the Hamilton-Thorne analyzer.

Theriogenology (60), S. 1553-1568.

ROBERTSON, R. P. (1986):

Characterization and regulation of prostaglandin and leukotriene receptors: an overview.

Prostaglandins 31 (3), S. 395–411.

RODRIGUEZ-MARTINEZ, H.; KO, J.; McKENNA, D.; WESTON, P. G.; WHITMORE, H. L.; GUSTAFSSON, B. K.; WAGNER, W. C. (1987):

Uterine motility in the cow during the estrous cycle. II. Comparative effects of prostaglandins F(2 $\alpha$ ), E(2), and cloprostenol.

Theriogenology 27 (2), S. 349–358.

ROWSON, L. E.; TERVIT, R.; BRAND, A. (1972):

The use of prostaglandins for synchronization of oestrus in cattle.

Journal of Reproduction and Fertility 29 (1), S. 145.

SAKSENA, S. K.; EL-SAFOURY, S.; BARTKE, A. (1973):

Prostaglandins E2 and F2 decrease plasma testosterone levels in male rats.

Prostaglandins 4 (2), S. 235–242.

SHALEV, Y.; SHEMESH, M.; LEVINSHAL, T. (1994):

Localization of cyclooxygenase and production of prostaglandins in bovine spermatozoa.

Journal of Reproduction and Fertility 101, S. 405–413.

SINGH, S. K. und DOMINIC, C. J. (1986):

Prostaglandin F2  $\alpha$ -induced changes in the sex organs of the male laboratory mouse.

Experimental and Clinical Endocrinology 88 (3), S. 309–315.

SCHAEFER, M.; HOFMANN, T.; SCHULTZ, G.; GUDERMANN, T. (1998):

A new prostaglandin E receptor mediates calcium influx and acrosome reaction in human spermatozoa.

Proceedings of the National Academy of Science USA 95 (6), S. 3008–3013.

- SCHLEGEL, W.; ROTERMUND, S.; FÄRBER, G.; NIESCHLAG, E. (1981):  
The influence of prostaglandins on sperm motility.  
Prostaglandins 21 (1), S. 87–99.
- SCHMID, G. und STOLLA, R. (1988):  
Intrauterine Druckmessung beim Rind mittels Mikrotransducern.  
Tierärztliche Umschau 43, S. 439-444.
- SCHOLZ, H. (2003):  
Prostaglandins.  
American Journal of Physiology – Regulatory, Integrative and Comparative  
Physiology 285 (3), S. 512-514.
- SCHRÖR, K. und HOHLFELD, T. (2005):  
Derivate des Arachidonsäurestoffwechsels.  
In: AKTORIES, K.; FÖRSTERMANN, U.; HOFMANN, F.; STARKE, K.  
(Hrsg.): Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie.  
9. Auflage, Urban & Fischer-Verlag München, S. 349-360.
- SHIMIZU, Y.; YORIMITSU, A.; MARUYAMA, Y.; KUBOTA, T.; ASO, T.; BRONSON,  
R. A. (1998):  
Prostaglandins induce calcium influx in human spermatozoa.  
Molecular Human Reproduction 4 (6), S. 555-561.
- SHORE, L.; YEHUDA, R.; MARCUS, S.; BARTOOV, B.; SHEMESH, M. (2003):  
Effect of hCG injection on prostaglandin E concentrations in ram seminal  
plasma.  
Prostaglandins and Other Lipid Mediators 70 (3-4), S. 291-301.
- SIROIS, J.; SAYASITH, K.; BROWN K. A.; STOCK A. E.; BOUCHARD, N.; DORE,  
M. (2004):  
Cyclooxygenase-2 and its role in ovulation: a 2004 account.  
Human Reproduction Update 10 (5), S. 373–385.

SPILMAN, C. H. und HARPER, M. J. K. (1973):

Effect of prostaglandins on oviduct motility in estrous rabbits.

Biology of Reproduction 9 (1), S. 36–45.

STURDE, H.-C. und GLOWANIA, H. J. (1974):

Die Spermaprostaglandine, Basisfaktoren der männlichen Fertilität.

Archiv für Dermatologische Forschung 251, S. 69-82.

STURDE, H.-C. (1971):

Das Verhalten der Spermaprostaglandine unter Androgentherapie.

Arzneimittelforschung 21, S. 986-989.

STURDE, H.-C. (1968):

Experimentelle Untersuchungen zur Frage der Prostaglandine und ihrer Beziehungen zur männlichen Fertilität.

Arzneimittelforschung 18 (10), S. 1298–1310.

TEMPLETON, A. A.; COOPER, I.; KELLY, R. W. (1978):

Prostaglandin concentrations in the semen of fertile men.

Journal of Reproduction and Fertility 52 (1), S. 147–150.

TIAN W. und NOAKES D. E. (1991):

Effects of four hormone treatments after calving on uterine and cervical involution and ovarian activity in cows.

Veterinary Record 128, S. 566-569.

TÖPFER-PETERSEN, E. (2007):

Spermienreifung, Transport und Befruchtung.

In: BUSCH, W. und WABERSKI, D. (Hrsg.): Künstliche Besamung bei Haus- und Nutztieren.

3. Auflage, Schattauer-Verlag Stuttgart, S. 84-93.

URADE, Y.; WATANABE, K.; HAYAISHI, O. (1995):

Prostaglandin D, E, and F synthases.

Journal of Lipid Mediators and Cell Signalling 12 (2-3), S. 257–273.

VENTURA, W. P. und FREUND, M. (1973):

Evidence for a new class of uterine stimulants in rat semen and male accessory gland secretions.

Journal of Reproduction and Fertility 33 (3), S. 507–511.

VERSTEGEN, J.; IGUER-OUADA, M.; ONCLIN, K. (2002):

Computer assisted semen analyzers in andrology research and veterinary practice.

Theriogenology 57 (1), S. 149–179.

VERSTEGEN, J.; ONCLIN, K.; IGUER-OUADA, M. (2005):

Long-term motility and fertility conservation of chilled canine semen using egg yolk added Tris-glucose extender: in vitro and in vivo studies.

Theriogenology 64 (3), S. 720-733.

VLACHOS, K.; KOVATSI, A.; TSOUKALI, E.; KOTSAKI, V. (1973):

Isolierung, Identifizierung und biologische Wirkung der Prostaglandine des Stierspermas.

Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 80 (5), S. 100–102.

VOGLMAYR, J. (1973):

Prostaglandin F<sub>2α</sub> concentration in genital tract secretions of dairy bulls.

Prostaglandins 4 (5), S. 673–678.

VOGT, W. (1957):

Pharmacologically active lipidsoluble acids of natural occurrence.

Nature 179 (4554), S. 300-304.

WABERSKI, D. und PETRUNKINA, A. M. (2007):

Spermatologie.

In: BUSCH, W. und WABERSKI, D. (Hrsg.): Künstliche Besamung bei Haus- und Nutztieren.

3. Auflage, Schattauer-Verlag Stuttgart, S. 99-118.

WATANABE, K. (2002):

Prostaglandin F synthase.

Prostaglandins and Other Lipid Mediators 68-69, S. 401–407.

WEEMS, C. W.; WEEMS, Y. S.; RANDEL, R. D. (2006):

Prostaglandins and reproduction in female farm animals.

Veterinary Journal 171 (2): S. 206–228.

WEITZE, K. F. und PETRUNKINA, A. M. (2007):

Samenkonservierung, biochemische Grundlagen und Prinzipien der Einfrier- und Auftautechniken.

In: BUSCH, W. und WABERSKI, D. (Hrsg.): Künstliche Besamung bei Haus- und Nutztieren.

3. Auflage, Schattauer-Verlag Stuttgart, S. 119-131.

WILLENBURG, K. L.; MILLER, G. M.; RODRIGUEZ-ZAS, S. L.; KNOX, R. V. (2003):

Influence of hormone supplementation to extended semen on artificial insemination, uterine contractions, establishment of a sperm reservoir, and fertility in swine.

Journal of Animal Science 81 (4), S. 821–829.

WINNALL, W. R.; ALI, U.; O'BRYAN, M. K.; HIRST, J. J.; WHILEY, P. A. F.; MUIR, J. A.; HEDGER, M. P. (2007):

Constitutive expression of prostaglandin-endoperoxide synthase 2 by somatic and spermatogenic cells is responsible for prostaglandin E<sub>2</sub> production in the adult rat testis.

Biology of Reproduction 76, S. 759–768.

YESTE, M.; BRIZ, M.; PINART, E.; SANCHO, S.; GARCIA-GIL, N.; BADIA, E.; BASSOLS, J.; PRUNEDA, A.; BUSSALLEU, E.; CASAS, I.; BONET, S. (2008):

Boar spermatozoa and prostaglandin F<sub>2α</sub>. Quality of boar sperm after the addition of prostaglandin F<sub>2α</sub> to the short-term extender over cooling time.

Animal Reproduction Science 108 (1-2), S. 180–195.

YOUNG, I. M. und ANDERSON D. B. (1986):

First service conception rate in dairy cows treated with dinoprost tromethamine early post partum.

Veterinary Record 118, S. 212-213.

ZOR, A.; KANEKO, T.; SCHNEIDER, H. P. G.; McCANN, S. M.; FIELD, J. B. (1970):

Further studies on stimulation of anterior pituitary cyclic adenosine-3,5'-monophosphate formation by the hypothalamic extract and prostaglandins.

Journal of Biological Chemistry 245, S. 2883-2885.



## **9 Anhang**

### **9.1 Anhang 1: Ergebnisse Versuch 1 (Tabellen 17 bis 29)**

Tabelle 17: Mittelwert und Standardabweichung des Anteils beweglicher Spermien (%) in Versuch 1

| Zeit<br>(h) | Kontrolle           |                    | Dinoprost        |                  |                  |                  | Cloprostenol-Racemat |                  |                  |                  | Cloprostenol-Enantiomer |  |  |
|-------------|---------------------|--------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|----------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------------|--|--|
|             | ohne Lsg.<br>mittel | mit Lsg.<br>mittel | 0,1<br>mg/ml     | 0,2<br>mg/ml     | 0,4<br>mg/ml     | 0,002<br>mg/ml   | 0,004<br>mg/ml       | 0,008<br>mg/ml   | 0,0006<br>mg/ml  | 0,0012<br>mg/ml  | 0,0024<br>mg/ml         |  |  |
|             |                     |                    |                  |                  |                  |                  |                      |                  |                  |                  |                         |  |  |
| <b>0</b>    | 59,93<br>± 16,11    | 58,52<br>± 17,93   | 58,37<br>± 14,40 | 57,61<br>± 14,95 | 58,83<br>± 14,34 | 58,56<br>± 12,97 | 56,92<br>± 13,75     | 58,27<br>± 14,42 | 58,22<br>± 16,41 | 57,00<br>± 16,57 | 57,80<br>± 17,78        |  |  |
| <b>2</b>    | 53,32<br>± 15,77    | 53,92<br>± 16,07   | 53,61<br>± 16,17 | 53,87<br>± 16,59 | 53,70<br>± 16,50 | 52,96<br>± 17,79 | 52,26<br>± 16,27     | 52,71<br>± 14,08 | 53,55<br>± 16,12 | 52,83<br>± 12,86 | 51,75<br>± 12,44        |  |  |
| <b>4</b>    | 53,93<br>± 15,70    | 51,07<br>± 13,15   | 53,03<br>± 15,16 | 53,73<br>± 16,22 | 54,32<br>± 16,10 | 51,48<br>± 14,18 | 51,69<br>± 15,67     | 50,28<br>± 16,14 | 53,27<br>± 15,16 | 53,78<br>± 11,05 | 50,82<br>± 13,86        |  |  |
| <b>6</b>    | 54,53<br>± 14,10    | 52,99<br>± 15,06   | 53,82<br>± 13,56 | 53,76<br>± 16,22 | 53,44<br>± 16,67 | 50,92<br>± 13,23 | 51,16<br>± 12,94     | 49,26<br>± 14,69 | 54,03<br>± 13,51 | 53,43<br>± 14,18 | 50,71<br>± 12,56        |  |  |
| <b>8</b>    | 54,34<br>± 13,22    | 53,59<br>± 14,22   | 54,15<br>± 14,52 | 55,43<br>± 14,09 | 52,68<br>± 18,39 | 53,62<br>± 13,26 | 53,69<br>± 13,93     | 50,15<br>± 14,95 | 54,50<br>± 15,72 | 52,39<br>± 12,64 | 51,39<br>± 15,01        |  |  |
| <b>10</b>   | 54,53<br>± 12,62    | 51,66<br>± 15,78   | 52,64<br>± 15,27 | 54,06<br>± 17,05 | 51,64<br>± 19,17 | 52,04<br>± 12,29 | 53,68<br>± 12,35     | 50,80<br>± 14,30 | 53,26<br>± 13,10 | 51,52<br>± 14,44 | 48,62<br>± 15,90        |  |  |
| <b>12</b>   | 54,74<br>± 12,04    | 51,32<br>± 15,13   | 54,89<br>± 13,87 | 53,53<br>± 16,69 | 51,89<br>± 17,23 | 53,42<br>± 13,08 | 53,28<br>± 13,79     | 50,87<br>± 13,22 | 56,04<br>± 13,46 | 51,79<br>± 13,35 | 50,85<br>± 13,49        |  |  |
| <b>24</b>   | 49,95<br>± 9,93     | 45,69<br>± 12,42   | 49,98<br>± 14,06 | 47,94<br>± 17,87 | 48,71<br>± 18,28 | 48,39<br>± 11,93 | 47,38<br>± 13,40     | 42,73<br>± 9,16  | 49,26<br>± 10,52 | 47,24<br>± 9,51  | 43,92<br>± 9,82         |  |  |

Tabelle 18: Mittelwert und Standardabweichung des Anteils vorwärtsbeweglicher Spermien (%) in Versuch 1

| Zeit (h)  | Kontrolle        |                  | Dinoprost        |                  |                  | Cloprostenol-Racemat |                  |                  | Cloprostenol-Enantiomer |                  |                  |
|-----------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|----------------------|------------------|------------------|-------------------------|------------------|------------------|
|           | ohne Lsg. mittel | mit Lsg. mittel  | 0,1 mg/ml        | 0,2 mg/ml        | 0,4 mg/ml        | 0,002 mg/ml          | 0,004 mg/ml      | 0,008 mg/ml      | 0,0006 mg/ml            | 0,0012 mg/ml     | 0,0024 mg/ml     |
| <b>0</b>  | 53,55<br>± 16,70 | 51,84<br>± 17,80 | 51,80<br>± 14,26 | 50,45<br>± 14,97 | 51,57<br>± 13,63 | 52,39<br>± 12,26     | 50,49<br>± 12,96 | 51,06<br>± 14,19 | 51,36<br>± 16,20        | 51,22<br>± 16,66 | 51,22<br>± 17,43 |
| <b>2</b>  | 45,71<br>± 15,12 | 46,96<br>± 15,07 | 45,66<br>± 15,18 | 46,53<br>± 14,91 | 45,94<br>± 14,97 | 45,22<br>± 16,65     | 44,42<br>± 16,27 | 45,34<br>± 13,90 | 46,20<br>± 15,09        | 45,31<br>± 12,90 | 44,45<br>± 12,41 |
| <b>4</b>  | 46,79<br>± 15,21 | 44,24<br>± 13,06 | 45,68<br>± 14,67 | 46,22<br>± 15,79 | 47,14<br>± 15,40 | 43,95<br>± 13,19     | 44,33<br>± 15,17 | 42,62<br>± 15,46 | 45,65<br>± 14,54        | 45,73<br>± 11,73 | 43,63<br>± 13,72 |
| <b>6</b>  | 47,17<br>± 13,83 | 45,99<br>± 14,42 | 46,22<br>± 12,92 | 46,22<br>± 15,18 | 46,17<br>± 16,75 | 43,48<br>± 12,63     | 43,74<br>± 12,25 | 42,10<br>± 14,23 | 46,72<br>± 13,07        | 45,96<br>± 13,99 | 43,90<br>± 12,04 |
| <b>8</b>  | 47,05<br>± 12,54 | 46,80<br>± 13,30 | 46,59<br>± 13,86 | 48,14<br>± 12,90 | 45,40<br>± 17,18 | 45,68<br>± 12,31     | 46,13<br>± 13,05 | 42,53<br>± 14,10 | 47,16<br>± 14,36        | 44,80<br>± 12,34 | 44,08<br>± 14,38 |
| <b>10</b> | 47,39<br>± 11,51 | 45,07<br>± 15,07 | 44,92<br>± 14,01 | 46,75<br>± 16,36 | 44,83<br>± 17,64 | 44,90<br>± 11,25     | 46,35<br>± 12,06 | 43,65<br>± 13,90 | 46,15<br>± 12,30        | 44,29<br>± 13,87 | 41,69<br>± 14,97 |
| <b>12</b> | 47,03<br>± 11,48 | 44,90<br>± 14,10 | 47,35<br>± 12,98 | 46,96<br>± 15,52 | 44,80<br>± 16,08 | 45,75<br>± 12,40     | 46,13<br>± 13,27 | 43,23<br>± 13,20 | 48,79<br>± 12,54        | 44,90<br>± 12,75 | 44,12<br>± 12,66 |
| <b>24</b> | 42,23<br>± 8,98  | 38,89<br>± 10,86 | 42,39<br>± 12,72 | 41,17<br>± 16,65 | 41,93<br>± 17,15 | 40,92<br>± 10,83     | 39,86<br>± 11,48 | 35,84<br>± 8,88  | 41,67<br>± 9,85         | 39,20<br>± 8,09  | 37,96<br>± 10,03 |

Tabelle 19: Mittelwert und Standardabweichung des tatsächlich zurückgelegten Weges ( $\mu\text{m}$ ) in Versuch 1

| Zeit (h)  | Kontrolle           |                     | Dinoprost           |                     |                     | Cloprostenol-Racemat |                     |                     | Cloprostenol-Enantiomer |                     |                     |
|-----------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------|---------------------|---------------------|-------------------------|---------------------|---------------------|
|           | ohne Lsg. mittel    | mit Lsg. mittel     | 0,1 mg/ml           | 0,2 mg/ml           | 0,4 mg/ml           | 0,002 mg/ml          | 0,004 mg/ml         | 0,008 mg/ml         | 0,0006 mg/ml            | 0,0012 mg/ml        | 0,0024 mg/ml        |
| <b>0</b>  | 50,17<br>$\pm 5,77$ | 55,12<br>$\pm 7,73$ | 52,01<br>$\pm 5,61$ | 53,78<br>$\pm 5,91$ | 54,14<br>$\pm 6,83$ | 49,99<br>$\pm 8,17$  | 51,70<br>$\pm 9,02$ | 51,43<br>$\pm 7,80$ | 50,90<br>$\pm 7,60$     | 51,35<br>$\pm 6,72$ | 52,11<br>$\pm 8,34$ |
| <b>2</b>  | 50,46<br>$\pm 5,33$ | 51,31<br>$\pm 8,58$ | 51,52<br>$\pm 3,73$ | 54,39<br>$\pm 3,70$ | 54,55<br>$\pm 4,86$ | 49,65<br>$\pm 5,74$  | 48,08<br>$\pm 4,72$ | 50,60<br>$\pm 7,44$ | 48,77<br>$\pm 5,67$     | 49,25<br>$\pm 6,82$ | 49,53<br>$\pm 6,53$ |
| <b>4</b>  | 54,07<br>$\pm 4,93$ | 51,16<br>$\pm 5,21$ | 51,73<br>$\pm 3,42$ | 52,83<br>$\pm 2,69$ | 55,77<br>$\pm 0,81$ | 49,53<br>$\pm 5,94$  | 50,12<br>$\pm 4,40$ | 50,12<br>$\pm 5,39$ | 51,80<br>$\pm 3,40$     | 50,58<br>$\pm 6,37$ | 50,22<br>$\pm 5,89$ |
| <b>6</b>  | 53,15<br>$\pm 4,76$ | 52,22<br>$\pm 4,60$ | 52,42<br>$\pm 1,74$ | 55,98<br>$\pm 3,26$ | 55,45<br>$\pm 2,59$ | 49,37<br>$\pm 4,28$  | 50,26<br>$\pm 5,69$ | 49,46<br>$\pm 6,29$ | 51,76<br>$\pm 4,51$     | 53,19<br>$\pm 5,91$ | 50,57<br>$\pm 6,23$ |
| <b>8</b>  | 55,34<br>$\pm 6,48$ | 55,60<br>$\pm 6,15$ | 54,39<br>$\pm 0,95$ | 56,66<br>$\pm 2,89$ | 56,26<br>$\pm 2,96$ | 51,09<br>$\pm 5,86$  | 50,24<br>$\pm 2,80$ | 50,49<br>$\pm 2,63$ | 53,83<br>$\pm 4,07$     | 50,40<br>$\pm 5,73$ | 51,80<br>$\pm 5,31$ |
| <b>10</b> | 55,00<br>$\pm 6,51$ | 50,83<br>$\pm 3,82$ | 53,08<br>$\pm 2,60$ | 54,16<br>$\pm 1,17$ | 55,09<br>$\pm 1,97$ | 52,40<br>$\pm 4,16$  | 52,47<br>$\pm 5,66$ | 51,56<br>$\pm 2,62$ | 52,86<br>$\pm 3,91$     | 53,00<br>$\pm 4,75$ | 52,25<br>$\pm 5,94$ |
| <b>12</b> | 55,13<br>$\pm 5,26$ | 52,05<br>$\pm 3,32$ | 53,38<br>$\pm 5,07$ | 53,88<br>$\pm 1,42$ | 53,94<br>$\pm 0,66$ | 49,63<br>$\pm 2,51$  | 53,18<br>$\pm 5,22$ | 50,44<br>$\pm 2,83$ | 54,41<br>$\pm 4,79$     | 52,64<br>$\pm 4,02$ | 51,81<br>$\pm 5,03$ |
| <b>24</b> | 51,02<br>$\pm 6,27$ | 47,27<br>$\pm 8,49$ | 49,19<br>$\pm 4,52$ | 49,99<br>$\pm 1,46$ | 53,38<br>$\pm 2,24$ | 48,19<br>$\pm 7,01$  | 47,35<br>$\pm 7,53$ | 44,26<br>$\pm 7,04$ | 48,95<br>$\pm 6,30$     | 47,47<br>$\pm 9,61$ | 45,65<br>$\pm 9,18$ |

Tabelle 20: Mittelwert und Standardabweichung der Länge einer geglätteten Linie ( $\mu\text{m}$ ) in Versuch 1

| Zeit (h)  | Kontrolle           |                     | Dinoprost           |                     |                     | Cloprostenol-Racemat |                     |                     | Cloprostenol-Enantiomer |                     |                     |
|-----------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------|---------------------|---------------------|-------------------------|---------------------|---------------------|
|           | ohne Lsg. mittel    | mit Lsg. mittel     | 0,1 mg/ml           | 0,2 mg/ml           | 0,4 mg/ml           | 0,002 mg/ml          | 0,004 mg/ml         | 0,008 mg/ml         | 0,0006 mg/ml            | 0,0012 mg/ml        | 0,0024 mg/ml        |
| <b>0</b>  | 27,53<br>$\pm$ 3,68 | 29,42<br>$\pm$ 3,73 | 27,82<br>$\pm$ 2,91 | 28,57<br>$\pm$ 3,53 | 27,74<br>$\pm$ 3,20 | 27,93<br>$\pm$ 3,90  | 28,74<br>$\pm$ 4,26 | 28,42<br>$\pm$ 4,07 | 28,12<br>$\pm$ 4,38     | 28,45<br>$\pm$ 3,62 | 28,76<br>$\pm$ 4,39 |
| <b>2</b>  | 26,82<br>$\pm$ 3,02 | 27,36<br>$\pm$ 3,68 | 26,73<br>$\pm$ 2,27 | 27,50<br>$\pm$ 1,65 | 26,86<br>$\pm$ 1,71 | 26,24<br>$\pm$ 2,79  | 25,88<br>$\pm$ 1,92 | 27,34<br>$\pm$ 3,14 | 25,78<br>$\pm$ 2,47     | 26,52<br>$\pm$ 3,17 | 26,81<br>$\pm$ 2,74 |
| <b>4</b>  | 27,15<br>$\pm$ 2,01 | 26,78<br>$\pm$ 2,30 | 25,84<br>$\pm$ 1,19 | 26,34<br>$\pm$ 0,76 | 27,14<br>$\pm$ 0,28 | 25,40<br>$\pm$ 2,01  | 26,49<br>$\pm$ 1,60 | 26,67<br>$\pm$ 2,38 | 25,97<br>$\pm$ 1,30     | 26,01<br>$\pm$ 2,69 | 26,47<br>$\pm$ 2,07 |
| <b>6</b>  | 26,35<br>$\pm$ 1,85 | 26,68<br>$\pm$ 1,73 | 25,73<br>$\pm$ 0,38 | 27,55<br>$\pm$ 1,52 | 26,89<br>$\pm$ 0,95 | 25,17<br>$\pm$ 1,23  | 25,81<br>$\pm$ 2,22 | 26,16<br>$\pm$ 2,29 | 25,79<br>$\pm$ 1,72     | 27,08<br>$\pm$ 2,45 | 26,40<br>$\pm$ 2,70 |
| <b>8</b>  | 27,11<br>$\pm$ 2,27 | 27,91<br>$\pm$ 2,38 | 26,46<br>$\pm$ 0,38 | 27,42<br>$\pm$ 0,93 | 27,07<br>$\pm$ 1,05 | 25,30<br>$\pm$ 2,32  | 25,82<br>$\pm$ 1,11 | 26,61<br>$\pm$ 1,22 | 26,44<br>$\pm$ 1,68     | 25,61<br>$\pm$ 2,27 | 26,70<br>$\pm$ 1,96 |
| <b>10</b> | 27,01<br>$\pm$ 2,29 | 26,07<br>$\pm$ 1,48 | 25,97<br>$\pm$ 0,91 | 26,43<br>$\pm$ 0,42 | 26,56<br>$\pm$ 0,73 | 26,03<br>$\pm$ 1,49  | 26,49<br>$\pm$ 2,03 | 26,80<br>$\pm$ 0,81 | 26,37<br>$\pm$ 1,59     | 26,87<br>$\pm$ 1,98 | 27,18<br>$\pm$ 2,17 |
| <b>12</b> | 26,92<br>$\pm$ 2,01 | 26,66<br>$\pm$ 1,45 | 26,22<br>$\pm$ 1,80 | 26,43<br>$\pm$ 0,48 | 26,11<br>$\pm$ 0,33 | 24,85<br>$\pm$ 0,77  | 26,65<br>$\pm$ 1,67 | 26,23<br>$\pm$ 0,97 | 26,82<br>$\pm$ 1,62     | 26,68<br>$\pm$ 1,35 | 26,81<br>$\pm$ 1,67 |
| <b>24</b> | 25,39<br>$\pm$ 2,16 | 24,71<br>$\pm$ 3,00 | 24,79<br>$\pm$ 1,42 | 25,09<br>$\pm$ 0,85 | 26,02<br>$\pm$ 0,93 | 24,68<br>$\pm$ 2,34  | 24,79<br>$\pm$ 2,70 | 23,62<br>$\pm$ 2,73 | 24,57<br>$\pm$ 1,98     | 24,52<br>$\pm$ 3,42 | 24,17<br>$\pm$ 3,07 |

Tabelle 21: Mittelwert und Standardabweichung der Strecke zwischen Start- und Endpunkt ( $\mu\text{m}$ ) in Versuch 1

| Zeit (h)  | Kontrolle           |                     | Dinoprost           |                     |                     | Cloprostenol-Racemat |                     |                     | Cloprostenol-Enantiomer |                     |                     |
|-----------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------|---------------------|---------------------|-------------------------|---------------------|---------------------|
|           | ohne Lsg. mittel    | mit Lsg. mittel     | 0,1 mg/ml           | 0,2 mg/ml           | 0,4 mg/ml           | 0,002 mg/ml          | 0,004 mg/ml         | 0,008 mg/ml         | 0,0006 mg/ml            | 0,0012 mg/ml        | 0,0024 mg/ml        |
| <b>0</b>  | 21,96<br>$\pm 4,30$ | 23,81<br>$\pm 3,98$ | 22,13<br>$\pm 3,67$ | 23,00<br>$\pm 4,12$ | 21,55<br>$\pm 3,42$ | 22,82<br>$\pm 3,81$  | 23,83<br>$\pm 4,25$ | 23,32<br>$\pm 4,06$ | 22,86<br>$\pm 4,55$     | 23,40<br>$\pm 3,95$ | 23,67<br>$\pm 4,51$ |
| <b>2</b>  | 21,01<br>$\pm 2,86$ | 22,12<br>$\pm 3,52$ | 21,02<br>$\pm 2,69$ | 21,25<br>$\pm 2,03$ | 19,77<br>$\pm 1,52$ | 20,67<br>$\pm 2,82$  | 20,61<br>$\pm 1,97$ | 22,22<br>$\pm 2,81$ | 20,23<br>$\pm 2,29$     | 21,23<br>$\pm 2,87$ | 21,86<br>$\pm 2,39$ |
| <b>4</b>  | 20,17<br>$\pm 1,62$ | 21,16<br>$\pm 2,17$ | 18,95<br>$\pm 1,12$ | 19,84<br>$\pm 0,79$ | 19,60<br>$\pm 0,55$ | 18,94<br>$\pm 1,30$  | 21,05<br>$\pm 1,36$ | 21,53<br>$\pm 2,16$ | 19,06<br>$\pm 1,00$     | 20,19<br>$\pm 1,99$ | 20,92<br>$\pm 1,44$ |
| <b>6</b>  | 18,90<br>$\pm 1,76$ | 20,71<br>$\pm 1,76$ | 18,11<br>$\pm 1,01$ | 20,61<br>$\pm 1,79$ | 19,35<br>$\pm 0,85$ | 18,87<br>$\pm 1,00$  | 19,90<br>$\pm 1,59$ | 20,59<br>$\pm 1,74$ | 18,69<br>$\pm 1,41$     | 20,85<br>$\pm 2,14$ | 20,69<br>$\pm 2,03$ |
| <b>8</b>  | 19,26<br>$\pm 2,18$ | 21,55<br>$\pm 2,53$ | 18,49<br>$\pm 0,88$ | 19,89<br>$\pm 1,36$ | 19,15<br>$\pm 0,84$ | 18,21<br>$\pm 2,04$  | 19,69<br>$\pm 0,86$ | 21,01<br>$\pm 1,44$ | 18,66<br>$\pm 2,32$     | 19,16<br>$\pm 1,59$ | 20,87<br>$\pm 1,88$ |
| <b>10</b> | 18,98<br>$\pm 2,23$ | 19,98<br>$\pm 1,62$ | 18,47<br>$\pm 1,30$ | 19,18<br>$\pm 0,23$ | 18,29<br>$\pm 1,16$ | 18,72<br>$\pm 1,76$  | 20,25<br>$\pm 1,76$ | 20,89<br>$\pm 0,81$ | 19,20<br>$\pm 1,84$     | 20,52<br>$\pm 2,00$ | 21,42<br>$\pm 1,96$ |
| <b>12</b> | 18,88<br>$\pm 2,39$ | 20,23<br>$\pm 1,26$ | 18,89<br>$\pm 1,89$ | 19,10<br>$\pm 0,32$ | 18,17<br>$\pm 0,62$ | 17,68<br>$\pm 0,92$  | 20,04<br>$\pm 1,55$ | 20,15<br>$\pm 0,68$ | 19,30<br>$\pm 1,72$     | 20,17<br>$\pm 1,14$ | 20,79<br>$\pm 1,37$ |
| <b>24</b> | 18,17<br>$\pm 1,86$ | 18,99<br>$\pm 1,91$ | 17,67<br>$\pm 1,73$ | 18,20<br>$\pm 1,11$ | 17,89<br>$\pm 1,27$ | 18,26<br>$\pm 2,12$  | 18,88<br>$\pm 2,36$ | 18,20<br>$\pm 1,42$ | 17,76<br>$\pm 1,64$     | 18,67<br>$\pm 2,28$ | 18,60<br>$\pm 1,82$ |

Tabelle 22: Mittelwert und Standardabweichung der Kurvilinearen Geschwindigkeit ( $\mu\text{m/s}$ ) in Versuch 1

| Zeit (h)  | Kontrolle         |                   | Dinoprost         |                   |                   | Cloprostenol-Racemat |                   |                   | Cloprostenol-Enantiomer |                   |                   |
|-----------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|----------------------|-------------------|-------------------|-------------------------|-------------------|-------------------|
|           | ohne Lsg. mittel  | mit Lsg. mittel   | 0,1 mg/ml         | 0,2 mg/ml         | 0,4 mg/ml         | 0,002 mg/ml          | 0,004 mg/ml       | 0,008 mg/ml       | 0,0006 mg/ml            | 0,0012 mg/ml      | 0,0024 mg/ml      |
| <b>0</b>  | 115,25<br>± 14,83 | 126,28<br>± 19,29 | 119,41<br>± 14,87 | 123,21<br>± 16,25 | 123,55<br>± 16,88 | 114,59<br>± 20,91    | 118,46<br>± 23,18 | 118,28<br>± 20,01 | 116,89<br>± 19,84       | 118,04<br>± 18,06 | 119,53<br>± 20,71 |
| <b>2</b>  | 116,13<br>± 13,01 | 117,72<br>± 20,89 | 117,85<br>± 9,77  | 124,63<br>± 9,62  | 125,03<br>± 12,97 | 113,65<br>± 14,11    | 111,25<br>± 13,50 | 115,96<br>± 18,56 | 112,16<br>± 14,46       | 112,96<br>± 17,60 | 112,84<br>± 17,32 |
| <b>4</b>  | 124,98<br>± 12,57 | 117,00<br>± 13,53 | 119,18<br>± 8,38  | 121,47<br>± 7,77  | 127,36<br>± 3,73  | 113,96<br>± 15,09    | 115,39<br>± 11,38 | 115,13<br>± 14,48 | 119,24<br>± 8,70        | 116,47<br>± 16,12 | 114,27<br>± 15,09 |
| <b>6</b>  | 123,73<br>± 12,06 | 119,62<br>± 12,61 | 120,19<br>± 5,77  | 128,25<br>± 9,15  | 126,19<br>± 7,03  | 112,70<br>± 12,00    | 115,37<br>± 15,11 | 113,20<br>± 16,31 | 118,62<br>± 11,10       | 122,16<br>± 14,68 | 115,91<br>± 15,78 |
| <b>8</b>  | 127,75<br>± 16,27 | 126,19<br>± 14,49 | 125,45<br>± 2,79  | 130,03<br>± 7,22  | 126,73<br>± 7,19  | 118,09<br>± 14,20    | 115,53<br>± 7,25  | 115,65<br>± 6,50  | 124,11<br>± 10,43       | 116,08<br>± 12,22 | 118,76<br>± 13,52 |
| <b>10</b> | 127,41<br>± 16,08 | 116,14<br>± 10,64 | 121,17<br>± 5,71  | 124,01<br>± 2,45  | 125,36<br>± 6,21  | 120,16<br>± 11,59    | 121,21<br>± 14,72 | 118,48<br>± 7,85  | 120,92<br>± 10,05       | 121,24<br>± 11,84 | 118,91<br>± 14,47 |
| <b>12</b> | 127,78<br>± 13,21 | 118,73<br>± 7,41  | 122,78<br>± 11,46 | 123,08<br>± 2,17  | 122,91<br>± 2,07  | 114,10<br>± 7,51     | 123,14<br>± 14,18 | 115,03<br>± 8,06  | 125,61<br>± 12,61       | 120,74<br>± 10,62 | 118,71<br>± 13,06 |
| <b>24</b> | 116,77<br>± 16,11 | 107,47<br>± 21,20 | 111,92<br>± 11,28 | 112,72<br>± 3,75  | 120,17<br>± 4,04  | 110,22<br>± 18,23    | 107,54<br>± 18,41 | 99,94<br>± 18,28  | 111,31<br>± 16,66       | 108,30<br>± 22,73 | 103,50<br>± 22,49 |

Tabelle 23: Mittelwert und Standardabweichung der Mittleren Geschwindigkeit ( $\mu\text{m/s}$ ) in Versuch 1

| Zeit (h)  | Kontrolle        |                 | Dinoprost       |                 |                 | Cloprostenol-Racemat |                  |                  | Cloprostenol-Enantiomer |                 |                  |
|-----------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------------|------------------|------------------|-------------------------|-----------------|------------------|
|           | ohne Lsg. mittel | mit Lsg. mittel | 0,1 mg/ml       | 0,2 mg/ml       | 0,4 mg/ml       | 0,002 mg/ml          | 0,004 mg/ml      | 0,008 mg/ml      | 0,0006 mg/ml            | 0,0012 mg/ml    | 0,0024 mg/ml     |
| <b>0</b>  | 63,34<br>± 8,79  | 67,61<br>± 9,23 | 64,10<br>± 7,46 | 65,66<br>± 9,18 | 63,53<br>± 7,85 | 64,14<br>± 10,00     | 65,92<br>± 10,99 | 65,51<br>± 10,36 | 64,72<br>± 11,09        | 65,49<br>± 9,47 | 66,11<br>± 10,87 |
| <b>2</b>  | 61,90<br>± 6,93  | 62,89<br>± 8,74 | 61,40<br>± 5,16 | 63,25<br>± 3,93 | 61,85<br>± 4,96 | 60,24<br>± 6,92      | 60,08<br>± 5,72  | 62,82<br>± 7,89  | 59,46<br>± 6,25         | 61,00<br>± 7,93 | 61,21<br>± 7,34  |
| <b>4</b>  | 63,08<br>± 5,27  | 61,41<br>± 5,97 | 59,83<br>± 2,90 | 60,84<br>± 2,53 | 62,37<br>± 1,42 | 58,64<br>± 5,33      | 61,19<br>± 4,35  | 61,49<br>± 6,35  | 60,08<br>± 3,35         | 60,12<br>± 6,59 | 60,40<br>± 5,51  |
| <b>6</b>  | 61,63<br>± 4,99  | 61,36<br>± 4,98 | 59,33<br>± 1,83 | 63,45<br>± 4,42 | 61,55<br>± 2,77 | 57,73<br>± 4,01      | 59,47<br>± 6,08  | 60,06<br>± 6,25  | 59,39<br>± 4,26         | 62,43<br>± 6,25 | 60,74<br>± 6,95  |
| <b>8</b>  | 62,88<br>± 5,96  | 63,59<br>± 5,80 | 61,30<br>± 0,45 | 63,29<br>± 2,40 | 61,35<br>± 2,76 | 58,82<br>± 5,65      | 59,64<br>± 2,84  | 61,23<br>± 2,78  | 61,30<br>± 4,54         | 59,24<br>± 4,69 | 61,43<br>± 5,22  |
| <b>10</b> | 62,86<br>± 6,08  | 59,78<br>± 4,26 | 59,59<br>± 2,00 | 60,88<br>± 0,50 | 60,81<br>± 2,37 | 59,97<br>± 4,46      | 61,44<br>± 5,42  | 61,84<br>± 2,75  | 60,59<br>± 4,06         | 61,65<br>± 4,92 | 62,04<br>± 5,41  |
| <b>12</b> | 62,81<br>± 5,18  | 61,12<br>± 3,22 | 60,62<br>± 4,05 | 60,70<br>± 0,34 | 59,88<br>± 0,98 | 57,41<br>± 2,70      | 62,00<br>± 4,98  | 60,06<br>± 3,03  | 62,23<br>± 4,57         | 61,43<br>± 3,77 | 61,68<br>± 4,58  |
| <b>24</b> | 58,40<br>± 5,92  | 56,46<br>± 7,97 | 56,68<br>± 3,78 | 56,86<br>± 2,15 | 59,01<br>± 1,65 | 56,72<br>± 6,63      | 56,49<br>± 6,88  | 53,49<br>± 7,57  | 56,13<br>± 5,74         | 56,22<br>± 8,25 | 55,04<br>± 7,94  |



Tabelle 24: Mittelwert und Standardabweichung der linearen Geschwindigkeit ( $\mu\text{m/s}$ ) in Versuch 1

| Zeit (h)  | Kontrolle        |                 | Dinoprost       |                  |                 | Cloprostenol-Racemat |                  |                  | Cloprostenol-Enantiomer |                 |                  |
|-----------|------------------|-----------------|-----------------|------------------|-----------------|----------------------|------------------|------------------|-------------------------|-----------------|------------------|
|           | ohne Lsg. mittel | mit Lsg. mittel | 0,1 mg/ml       | 0,2 mg/ml        | 0,4 mg/ml       | 0,002 mg/ml          | 0,004 mg/ml      | 0,008 mg/ml      | 0,0006 mg/ml            | 0,0012 mg/ml    | 0,0024 mg/ml     |
| <b>0</b>  | 50,58<br>± 9,99  | 54,75<br>± 9,60 | 51,06<br>± 8,91 | 52,92<br>± 10,19 | 49,39<br>± 8,16 | 52,43<br>± 9,50      | 54,66<br>± 10,67 | 53,76<br>± 10,06 | 52,66<br>± 11,24        | 53,90<br>± 9,92 | 54,48<br>± 10,98 |
| <b>2</b>  | 48,53<br>± 6,62  | 50,86<br>± 8,14 | 48,33<br>± 2,59 | 48,90<br>± 4,48  | 45,57<br>± 4,32 | 47,46<br>± 6,98      | 47,91<br>± 5,52  | 51,07<br>± 6,94  | 46,67<br>± 5,68         | 48,88<br>± 6,98 | 49,92<br>± 6,19  |
| <b>4</b>  | 46,94<br>± 4,41  | 48,48<br>± 5,40 | 43,92<br>± 3,05 | 45,82<br>± 2,40  | 45,02<br>± 1,39 | 43,75<br>± 3,67      | 48,68<br>± 3,69  | 49,69<br>± 5,58  | 44,14<br>± 2,71         | 46,71<br>± 4,71 | 47,69<br>± 3,78  |
| <b>6</b>  | 44,32<br>± 5,06  | 47,66<br>± 4,81 | 41,78<br>± 3,20 | 47,51<br>± 4,80  | 44,26<br>± 2,35 | 43,31<br>± 3,53      | 45,88<br>± 4,44  | 47,23<br>± 4,79  | 43,02<br>± 3,54         | 48,08<br>± 5,40 | 47,67<br>± 5,34  |
| <b>8</b>  | 44,72<br>± 5,71  | 49,03<br>± 6,08 | 42,89<br>± 2,44 | 45,94<br>± 3,45  | 43,41<br>± 2,19 | 42,45<br>± 5,23      | 45,52<br>± 2,45  | 48,37<br>± 3,10  | 43,35<br>± 5,97         | 44,32<br>± 3,32 | 47,96<br>± 4,85  |
| <b>10</b> | 44,28<br>± 6,21  | 45,85<br>± 4,20 | 42,43<br>± 3,44 | 44,24<br>± 1,17  | 41,87<br>± 3,12 | 43,22<br>± 4,86      | 47,00<br>± 4,65  | 48,24<br>± 2,63  | 44,19<br>± 4,54         | 47,13<br>± 4,98 | 48,85<br>± 4,67  |
| <b>12</b> | 44,18<br>± 6,13  | 46,38<br>± 2,99 | 43,69<br>± 4,44 | 43,85<br>± 1,14  | 41,64<br>± 1,62 | 40,88<br>± 3,07      | 46,68<br>± 4,55  | 46,13<br>± 2,17  | 44,93<br>± 4,89         | 46,48<br>± 3,31 | 47,85<br>± 3,64  |
| <b>24</b> | 41,80<br>± 5,18  | 43,34<br>± 5,37 | 40,36<br>± 4,33 | 41,24<br>± 2,71  | 40,55<br>± 2,76 | 41,96<br>± 5,97      | 42,97<br>± 5,94  | 41,13<br>± 4,48  | 40,59<br>± 4,78         | 42,82<br>± 5,02 | 42,29<br>± 5,02  |

Tabelle 25: Mittelwert und Standardabweichung der Linearität in Versuch 1

| Zeit (h)  | Kontrolle        |                 | Dinoprost      |                |                | Cloprostenol-Racemat |                |                | Cloprostenol-Enantiomer |                |                |
|-----------|------------------|-----------------|----------------|----------------|----------------|----------------------|----------------|----------------|-------------------------|----------------|----------------|
|           | ohne Lsg. mittel | mit Lsg. mittel | 0,1 mg/ml      | 0,2 mg/ml      | 0,4 mg/ml      | 0,002 mg/ml          | 0,004 mg/ml    | 0,008 mg/ml    | 0,0006 mg/ml            | 0,0012 mg/ml   | 0,0024 mg/ml   |
| <b>0</b>  | 0,43<br>± 0,05   | 0,43<br>± 0,03  | 0,42<br>± 0,05 | 0,42<br>± 0,04 | 0,40<br>± 0,02 | 0,45<br>± 0,04       | 0,46<br>± 0,04 | 0,45<br>± 0,03 | 0,44<br>± 0,04          | 0,45<br>± 0,04 | 0,45<br>± 0,03 |
| <b>2</b>  | 0,41<br>± 0,01   | 0,43<br>± 0,03  | 0,40<br>± 0,03 | 0,39<br>± 0,03 | 0,36<br>± 0,01 | 0,41<br>± 0,01       | 0,43<br>± 0,02 | 0,44<br>± 0,02 | 0,41<br>± 0,01          | 0,43<br>± 0,03 | 0,44<br>± 0,02 |
| <b>4</b>  | 0,37<br>± 0,01   | 0,41<br>± 0,01  | 0,36<br>± 0,01 | 0,37<br>± 0,01 | 0,35<br>± 0,01 | 0,38<br>± 0,02       | 0,42<br>± 0,01 | 0,43<br>± 0,02 | 0,37<br>± 0,01          | 0,40<br>± 0,02 | 0,41<br>± 0,02 |
| <b>6</b>  | 0,35<br>± 0,02   | 0,39<br>± 0,01  | 0,34<br>± 0,01 | 0,36<br>± 0,01 | 0,35<br>± 0,00 | 0,38<br>± 0,01       | 0,40<br>± 0,01 | 0,41<br>± 0,02 | 0,36<br>± 0,01          | 0,39<br>± 0,01 | 0,41<br>± 0,01 |
| <b>8</b>  | 0,34<br>± 0,01   | 0,38<br>± 0,00  | 0,34<br>± 0,01 | 0,35<br>± 0,01 | 0,34<br>± 0,01 | 0,35<br>± 0,01       | 0,39<br>± 0,01 | 0,41<br>± 0,01 | 0,34<br>± 0,02          | 0,38<br>± 0,01 | 0,40<br>± 0,00 |
| <b>10</b> | 0,34<br>± 0,02   | 0,39<br>± 0,01  | 0,34<br>± 0,02 | 0,35<br>± 0,01 | 0,33<br>± 0,01 | 0,35<br>± 0,01       | 0,38<br>± 0,01 | 0,40<br>± 0,01 | 0,36<br>± 0,01          | 0,38<br>± 0,00 | 0,41<br>± 0,02 |
| <b>12</b> | 0,34<br>± 0,02   | 0,38<br>± 0,01  | 0,35<br>± 0,01 | 0,35<br>± 0,01 | 0,33<br>± 0,01 | 0,35<br>± 0,01       | 0,37<br>± 0,01 | 0,40<br>± 0,01 | 0,35<br>± 0,02          | 0,38<br>± 0,01 | 0,40<br>± 0,02 |
| <b>24</b> | 0,36<br>± 0,03   | 0,40<br>± 0,04  | 0,36<br>± 0,01 | 0,36<br>± 0,01 | 0,33<br>± 0,02 | 0,38<br>± 0,03       | 0,40<br>± 0,03 | 0,41<br>± 0,04 | 0,36<br>± 0,03          | 0,39<br>± 0,04 | 0,41<br>± 0,05 |

Tabelle 26: Mittelwert und Standardabweichung der Geradlinigkeit des durchschnittl. Bewegungsablaufes in Versuch 1

| Zeit (h) | Kontrolle        |                 | Dinoprost   |             |             | Cloprostenol-Racemat |             |             | Cloprostenol-Enantiomer |              |              |
|----------|------------------|-----------------|-------------|-------------|-------------|----------------------|-------------|-------------|-------------------------|--------------|--------------|
|          | ohne Lsg. mittel | mit Lsg. mittel | 0,1 mg/ml   | 0,2 mg/ml   | 0,4 mg/ml   | 0,002 mg/ml          | 0,004 mg/ml | 0,008 mg/ml | 0,0006 mg/ml            | 0,0012 mg/ml | 0,0024 mg/ml |
| 0        | 0,79 ± 0,05      | 0,80 ± 0,04     | 0,79 ± 0,06 | 0,80 ± 0,05 | 0,77 ± 0,04 | 0,81 ± 0,04          | 0,82 ± 0,03 | 0,81 ± 0,03 | 0,81 ± 0,04             | 0,81 ± 0,04  | 0,82 ± 0,04  |
| 2        | 0,78 ± 0,02      | 0,80 ± 0,03     | 0,78 ± 0,03 | 0,77 ± 0,03 | 0,73 ± 0,02 | 0,78 ± 0,03          | 0,79 ± 0,02 | 0,81 ± 0,01 | 0,78 ± 0,01             | 0,80 ± 0,02  | 0,81 ± 0,01  |
| 4        | 0,74 ± 0,02      | 0,78 ± 0,01     | 0,73 ± 0,02 | 0,75 ± 0,01 | 0,72 ± 0,02 | 0,74 ± 0,01          | 0,79 ± 0,00 | 0,80 ± 0,01 | 0,73 ± 0,01             | 0,77 ± 0,01  | 0,78 ± 0,01  |
| 6        | 0,71 ± 0,04      | 0,77 ± 0,02     | 0,70 ± 0,03 | 0,74 ± 0,02 | 0,71 ± 0,01 | 0,75 ± 0,01          | 0,77 ± 0,01 | 0,78 ± 0,01 | 0,72 ± 0,02             | 0,76 ± 0,02  | 0,78 ± 0,01  |
| 8        | 0,70 ± 0,03      | 0,76 ± 0,03     | 0,70 ± 0,04 | 0,72 ± 0,03 | 0,70 ± 0,00 | 0,71 ± 0,03          | 0,76 ± 0,01 | 0,78 ± 0,02 | 0,70 ± 0,05             | 0,74 ± 0,01  | 0,77 ± 0,01  |
| 10       | 0,70 ± 0,04      | 0,76 ± 0,02     | 0,71 ± 0,04 | 0,72 ± 0,02 | 0,68 ± 0,03 | 0,71 ± 0,03          | 0,76 ± 0,01 | 0,77 ± 0,01 | 0,72 ± 0,02             | 0,76 ± 0,02  | 0,78 ± 0,01  |
| 12       | 0,70 ± 0,04      | 0,75 ± 0,01     | 0,71 ± 0,03 | 0,72 ± 0,02 | 0,69 ± 0,02 | 0,71 ± 0,02          | 0,75 ± 0,02 | 0,76 ± 0,01 | 0,71 ± 0,04             | 0,75 ± 0,01  | 0,77 ± 0,01  |
| 24       | 0,71 ± 0,04      | 0,76 ± 0,03     | 0,71 ± 0,03 | 0,72 ± 0,02 | 0,68 ± 0,03 | 0,73 ± 0,04          | 0,76 ± 0,02 | 0,77 ± 0,04 | 0,72 ± 0,03             | 0,76 ± 0,02  | 0,76 ± 0,04  |

Tabelle 27: Mittelwert und Standardabweichung der Auslenkung der Spermienbewegung in Versuch 1

| Zeit (h)  | Kontrolle        |                 | Dinoprost      |                |                | Cloprostenol-Racemat |                |                | Cloprostenol-Enantiomer |                |                |
|-----------|------------------|-----------------|----------------|----------------|----------------|----------------------|----------------|----------------|-------------------------|----------------|----------------|
|           | ohne Lsg. mittel | mit Lsg. mittel | 0,1 mg/ml      | 0,2 mg/ml      | 0,4 mg/ml      | 0,002 mg/ml          | 0,004 mg/ml    | 0,008 mg/ml    | 0,0006 mg/ml            | 0,0012 mg/ml   | 0,0024 mg/ml   |
| <b>0</b>  | 0,54<br>± 0,03   | 0,53<br>± 0,02  | 0,53<br>± 0,03 | 0,53<br>± 0,02 | 0,51<br>± 0,01 | 0,56<br>± 0,03       | 0,55<br>± 0,03 | 0,55<br>± 0,03 | 0,55<br>± 0,02          | 0,55<br>± 0,03 | 0,55<br>± 0,02 |
| <b>2</b>  | 0,53<br>± 0,02   | 0,53<br>± 0,03  | 0,52<br>± 0,02 | 0,50<br>± 0,02 | 0,49<br>± 0,01 | 0,52<br>± 0,01       | 0,54<br>± 0,02 | 0,54<br>± 0,02 | 0,52<br>± 0,02          | 0,54<br>± 0,02 | 0,54<br>± 0,02 |
| <b>4</b>  | 0,50<br>± 0,01   | 0,52<br>± 0,02  | 0,50<br>± 0,01 | 0,50<br>± 0,01 | 0,49<br>± 0,01 | 0,51<br>± 0,02       | 0,53<br>± 0,01 | 0,53<br>± 0,02 | 0,50<br>± 0,01          | 0,51<br>± 0,02 | 0,53<br>± 0,02 |
| <b>6</b>  | 0,49<br>± 0,01   | 0,51<br>± 0,01  | 0,49<br>± 0,01 | 0,49<br>± 0,00 | 0,48<br>± 0,01 | 0,51<br>± 0,02       | 0,51<br>± 0,02 | 0,53<br>± 0,02 | 0,50<br>± 0,01          | 0,51<br>± 0,01 | 0,52<br>± 0,01 |
| <b>8</b>  | 0,49<br>± 0,02   | 0,50<br>± 0,01  | 0,48<br>± 0,01 | 0,48<br>± 0,01 | 0,48<br>± 0,01 | 0,50<br>± 0,01       | 0,51<br>± 0,01 | 0,53<br>± 0,01 | 0,49<br>± 0,01          | 0,51<br>± 0,02 | 0,51<br>± 0,02 |
| <b>10</b> | 0,49<br>± 0,02   | 0,51<br>± 0,01  | 0,49<br>± 0,01 | 0,49<br>± 0,01 | 0,48<br>± 0,01 | 0,49<br>± 0,01       | 0,50<br>± 0,02 | 0,52<br>± 0,01 | 0,50<br>± 0,01          | 0,50<br>± 0,01 | 0,52<br>± 0,02 |
| <b>12</b> | 0,49<br>± 0,01   | 0,51<br>± 0,00  | 0,49<br>± 0,01 | 0,49<br>± 0,01 | 0,48<br>± 0,00 | 0,50<br>± 0,01       | 0,50<br>± 0,02 | 0,52<br>± 0,01 | 0,49<br>± 0,01          | 0,51<br>± 0,01 | 0,51<br>± 0,02 |
| <b>24</b> | 0,50<br>± 0,02   | 0,52<br>± 0,03  | 0,50<br>± 0,02 | 0,50<br>± 0,01 | 0,49<br>± 0,00 | 0,51<br>± 0,03       | 0,52<br>± 0,03 | 0,53<br>± 0,03 | 0,50<br>± 0,03          | 0,52<br>± 0,04 | 0,53<br>± 0,05 |

Tabelle 28: Mittelwert und Standardabweichung der Frequenz der lateralen Kopfbewegungen (Hz) in Versuch 1

| Zeit (h)  | Kontrolle        |                 | Dinoprost       |                 |                 | Cloprostenol-Racemat |                 |                 | Cloprostenol-Enantiomer |                 |                 |
|-----------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------------|-----------------|-----------------|-------------------------|-----------------|-----------------|
|           | ohne Lsg. mittel | mit Lsg. mittel | 0,1 mg/ml       | 0,2 mg/ml       | 0,4 mg/ml       | 0,002 mg/ml          | 0,004 mg/ml     | 0,008 mg/ml     | 0,0006 mg/ml            | 0,0012 mg/ml    | 0,0024 mg/ml    |
| <b>0</b>  | 26,64<br>± 3,67  | 26,86<br>± 2,34 | 26,32<br>± 2,87 | 26,94<br>± 2,91 | 24,38<br>± 1,70 | 27,79<br>± 2,60      | 28,30<br>± 2,49 | 27,44<br>± 2,22 | 27,22<br>± 2,44         | 27,87<br>± 2,28 | 27,83<br>± 2,54 |
| <b>2</b>  | 26,51<br>± 1,30  | 26,13<br>± 1,10 | 25,82<br>± 1,45 | 24,73<br>± 1,55 | 22,79<br>± 0,97 | 26,07<br>± 0,74      | 26,24<br>± 0,85 | 26,35<br>± 0,69 | 26,15<br>± 0,58         | 26,64<br>± 1,63 | 26,67<br>± 1,34 |
| <b>4</b>  | 24,65<br>± 0,28  | 25,40<br>± 1,12 | 23,43<br>± 0,91 | 23,67<br>± 0,52 | 22,11<br>± 1,25 | 24,40<br>± 0,93      | 25,98<br>± 1,00 | 26,13<br>± 1,51 | 24,01<br>± 0,38         | 25,50<br>± 1,43 | 25,54<br>± 1,55 |
| <b>6</b>  | 23,45<br>± 0,42  | 24,46<br>± 0,69 | 22,56<br>± 0,58 | 23,06<br>± 0,43 | 21,95<br>± 1,26 | 24,07<br>± 0,80      | 25,13<br>± 1,32 | 25,24<br>± 1,46 | 23,54<br>± 0,48         | 24,96<br>± 0,89 | 25,20<br>± 1,30 |
| <b>8</b>  | 23,19<br>± 0,55  | 24,58<br>± 0,80 | 22,62<br>± 0,69 | 23,00<br>± 0,31 | 21,21<br>± 0,96 | 23,51<br>± 0,36      | 24,37<br>± 0,92 | 24,88<br>± 1,54 | 23,01<br>± 1,05         | 24,13<br>± 1,37 | 24,97<br>± 0,99 |
| <b>10</b> | 23,00<br>± 0,78  | 23,71<br>± 0,89 | 22,50<br>± 0,23 | 22,57<br>± 0,68 | 21,01<br>± 1,07 | 23,27<br>± 0,49      | 24,39<br>± 0,37 | 24,64<br>± 1,33 | 23,42<br>± 0,57         | 24,23<br>± 0,28 | 24,91<br>± 1,04 |
| <b>12</b> | 22,52<br>± 1,02  | 23,61<br>± 0,90 | 22,46<br>± 0,44 | 22,08<br>± 0,92 | 21,01<br>± 1,03 | 22,38<br>± 0,80      | 23,96<br>± 0,55 | 23,98<br>± 1,15 | 23,20<br>± 0,58         | 24,06<br>± 0,84 | 24,48<br>± 1,09 |
| <b>24</b> | 22,11<br>± 0,90  | 22,94<br>± 2,16 | 21,44<br>± 0,57 | 21,30<br>± 0,47 | 20,40<br>± 1,18 | 22,42<br>± 1,01      | 23,21<br>± 0,59 | 23,22<br>± 2,31 | 22,17<br>± 0,96         | 23,05<br>± 1,07 | 23,26<br>± 2,20 |

Tabelle 29: Mittelwert und Standardabweichung der Amplitude der lateralen Kopfbewegungen ( $\mu\text{m}$ ) in Versuch 1

| Zeit (h)  | Kontrolle          |                    | Dinoprost          |                    |                    | Cloprostenol-Racemat |                    |                    | Cloprostenol-Enantiomer |                    |                    |
|-----------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|----------------------|--------------------|--------------------|-------------------------|--------------------|--------------------|
|           | ohne Lsg. mittel   | mit Lsg. mittel    | 0,1 mg/ml          | 0,2 mg/ml          | 0,4 mg/ml          | 0,002 mg/ml          | 0,004 mg/ml        | 0,008 mg/ml        | 0,0006 mg/ml            | 0,0012 mg/ml       | 0,0024 mg/ml       |
| <b>0</b>  | 4,25<br>$\pm 0,38$ | 4,48<br>$\pm 0,49$ | 4,39<br>$\pm 0,42$ | 4,39<br>$\pm 0,36$ | 4,63<br>$\pm 0,38$ | 4,10<br>$\pm 0,63$   | 4,10<br>$\pm 0,58$ | 4,23<br>$\pm 0,57$ | 4,23<br>$\pm 0,47$      | 4,19<br>$\pm 0,50$ | 4,18<br>$\pm 0,47$ |
| <b>2</b>  | 4,39<br>$\pm 0,14$ | 4,29<br>$\pm 0,58$ | 4,46<br>$\pm 0,33$ | 4,79<br>$\pm 0,45$ | 5,16<br>$\pm 0,30$ | 4,43<br>$\pm 0,25$   | 4,34<br>$\pm 0,38$ | 4,32<br>$\pm 0,45$ | 4,29<br>$\pm 0,33$      | 4,22<br>$\pm 0,60$ | 4,11<br>$\pm 0,72$ |
| <b>4</b>  | 4,93<br>$\pm 0,29$ | 4,37<br>$\pm 0,44$ | 4,87<br>$\pm 0,19$ | 4,83<br>$\pm 0,33$ | 5,27<br>$\pm 0,29$ | 4,66<br>$\pm 0,46$   | 4,37<br>$\pm 0,34$ | 4,31<br>$\pm 0,52$ | 4,92<br>$\pm 0,20$      | 4,47<br>$\pm 0,63$ | 4,35<br>$\pm 0,60$ |
| <b>6</b>  | 5,15<br>$\pm 0,32$ | 4,57<br>$\pm 0,40$ | 5,05<br>$\pm 0,07$ | 5,05<br>$\pm 0,35$ | 5,26<br>$\pm 0,33$ | 4,53<br>$\pm 0,44$   | 4,46<br>$\pm 0,57$ | 4,36<br>$\pm 0,66$ | 4,85<br>$\pm 0,32$      | 4,70<br>$\pm 0,45$ | 4,48<br>$\pm 0,68$ |
| <b>8</b>  | 5,28<br>$\pm 0,37$ | 4,83<br>$\pm 0,32$ | 5,27<br>$\pm 0,22$ | 5,33<br>$\pm 0,10$ | 5,39<br>$\pm 0,29$ | 4,94<br>$\pm 0,30$   | 4,64<br>$\pm 0,18$ | 4,54<br>$\pm 0,28$ | 5,17<br>$\pm 0,31$      | 4,74<br>$\pm 0,35$ | 4,58<br>$\pm 0,35$ |
| <b>10</b> | 5,25<br>$\pm 0,26$ | 4,62<br>$\pm 0,33$ | 5,13<br>$\pm 0,11$ | 5,11<br>$\pm 0,14$ | 5,41<br>$\pm 0,20$ | 4,94<br>$\pm 0,15$   | 4,75<br>$\pm 0,33$ | 4,61<br>$\pm 0,35$ | 4,89<br>$\pm 0,13$      | 4,71<br>$\pm 0,22$ | 4,49<br>$\pm 0,52$ |
| <b>12</b> | 5,31<br>$\pm 0,13$ | 4,72<br>$\pm 0,29$ | 5,12<br>$\pm 0,10$ | 5,15<br>$\pm 0,15$ | 5,32<br>$\pm 0,14$ | 4,95<br>$\pm 0,16$   | 4,84<br>$\pm 0,35$ | 4,62<br>$\pm 0,41$ | 5,15<br>$\pm 0,30$      | 4,79<br>$\pm 0,35$ | 4,62<br>$\pm 0,46$ |
| <b>24</b> | 5,04<br>$\pm 0,62$ | 4,49<br>$\pm 0,91$ | 4,95<br>$\pm 0,27$ | 4,94<br>$\pm 0,11$ | 5,34<br>$\pm 0,16$ | 4,77<br>$\pm 0,57$   | 4,53<br>$\pm 0,57$ | 4,18<br>$\pm 1,04$ | 4,81<br>$\pm 0,65$      | 4,63<br>$\pm 0,71$ | 4,29<br>$\pm 1,04$ |

**9.2 Anhang 2: Ergebnisse Versuch 2 (Tabellen 30 bis 42)**

Tabelle 30: Mittelwert und Standardabweichung des Anteils beweglicher Spermien (%) in Versuch 2

| Zeit (h) | Dinoprost        |                  |                  |                  |                  | Cloprostenol-Racemat |                  |                  |                  |                  | Cloprostenol-Enantiomer |                 |                  |                  |                 |                 |
|----------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|----------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------------|-----------------|------------------|------------------|-----------------|-----------------|
|          | 0,0 mg/ml        | 0,1 mg/ml        | 0,2 mg/ml        | 0,4 mg/ml        | 0,0 mg/ml        | 0,002 mg/ml          | 0,004 mg/ml      | 0,008 mg/ml      | 0,0 mg/ml        | 0,0006 mg/ml     | 0,0012 mg/ml            | 0,0024 mg/ml    | 0,0 mg/ml        | 0,0006 mg/ml     | 0,0012 mg/ml    | 0,0024 mg/ml    |
| 0        | 62,36<br>± 9,03  | 61,64<br>± 9,41  | 58,90<br>± 9,77  | 59,13<br>± 9,91  | 62,94<br>± 8,94  | 62,13<br>± 9,51      | 60,83<br>± 9,94  | 60,31<br>± 10,09 | 64,28<br>± 8,34  | 61,36<br>± 8,28  | 61,08<br>± 8,24         | 61,72<br>± 9,20 | 64,28<br>± 8,34  | 61,36<br>± 8,28  | 61,08<br>± 8,24 | 61,72<br>± 9,20 |
| 2        | 53,09<br>± 9,77  | 53,21<br>± 9,68  | 53,42<br>± 10,43 | 54,11<br>± 10,65 | 53,32<br>± 8,89  | 52,27<br>± 10,24     | 52,98<br>± 9,41  | 53,47<br>± 10,92 | 54,07<br>± 9,47  | 53,34<br>± 9,56  | 53,24<br>± 9,17         | 52,93<br>± 8,18 | 54,07<br>± 9,47  | 53,34<br>± 9,56  | 53,24<br>± 9,17 | 52,93<br>± 8,18 |
| 4        | 52,81<br>± 9,65  | 52,25<br>± 10,25 | 52,33<br>± 10,69 | 51,94<br>± 10,90 | 53,20<br>± 9,61  | 51,75<br>± 10,12     | 51,98<br>± 10,30 | 51,68<br>± 10,23 | 52,78<br>± 9,99  | 52,31<br>± 9,07  | 52,68<br>± 9,85         | 51,28<br>± 8,89 | 52,78<br>± 9,99  | 52,31<br>± 9,07  | 52,68<br>± 9,85 | 51,28<br>± 8,89 |
| 6        | 52,09<br>± 9,44  | 52,49<br>± 10,50 | 52,46<br>± 10,04 | 50,77<br>± 10,56 | 52,13<br>± 10,66 | 51,95<br>± 10,48     | 51,08<br>± 9,79  | 50,31<br>± 10,69 | 51,97<br>± 9,29  | 52,51<br>± 9,76  | 51,91<br>± 9,69         | 50,20<br>± 8,72 | 51,97<br>± 9,29  | 52,51<br>± 9,76  | 51,91<br>± 9,69 | 50,20<br>± 8,72 |
| 8        | 52,59<br>± 9,62  | 51,93<br>± 10,19 | 52,14<br>± 10,03 | 51,29<br>± 10,81 | 52,32<br>± 9,64  | 50,77<br>± 9,95      | 51,36<br>± 10,17 | 50,47<br>± 10,35 | 52,63<br>± 9,05  | 51,87<br>± 10,23 | 51,61<br>± 8,98         | 49,54<br>± 9,10 | 52,63<br>± 9,05  | 51,87<br>± 10,23 | 51,61<br>± 8,98 | 49,54<br>± 9,10 |
| 10       | 53,21<br>± 9,53  | 53,26<br>± 9,89  | 52,21<br>± 10,22 | 51,12<br>± 10,93 | 52,56<br>± 10,05 | 51,71<br>± 9,57      | 51,85<br>± 9,30  | 49,97<br>± 9,16  | 53,06<br>± 8,70  | 52,55<br>± 9,75  | 51,51<br>± 9,12         | 49,61<br>± 9,60 | 53,06<br>± 8,70  | 52,55<br>± 9,75  | 51,51<br>± 9,12 | 49,61<br>± 9,60 |
| 12       | 52,35<br>± 10,09 | 52,50<br>± 10,68 | 51,99<br>± 9,90  | 50,42<br>± 11,38 | 52,81<br>± 9,84  | 52,45<br>± 9,93      | 51,63<br>± 9,97  | 49,16<br>± 10,22 | 52,35<br>± 8,66  | 52,69<br>± 8,98  | 51,31<br>± 9,37         | 49,43<br>± 8,98 | 52,35<br>± 8,66  | 52,69<br>± 8,98  | 51,31<br>± 9,37 | 49,43<br>± 8,98 |
| 24       | 45,02<br>± 13,68 | 47,75<br>± 8,88  | 48,47<br>± 9,74  | 46,35<br>± 12,47 | 47,07<br>± 9,01  | 46,15<br>± 8,75      | 46,53<br>± 8,64  | 44,14<br>± 8,02  | 45,07<br>± 10,26 | 45,89<br>± 10,15 | 45,21<br>± 9,95         | 42,91<br>± 8,99 | 45,07<br>± 10,26 | 45,89<br>± 10,15 | 45,21<br>± 9,95 | 42,91<br>± 8,99 |



Tabelle 31: Mittelwert und Standardabweichung des Anteils vorwärtsbeweglicher Spermien (%) in Versuch 2

| Zeit (h) | Dinoprost        |                  |                  |                  |                  | Cloprostenol-Racemat |                 |                  |                  |                  | Cloprostenol-Enantiomer |                 |                  |                  |                  |                 |
|----------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|----------------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|-------------------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|-----------------|
|          | 0,0 mg/ml        | 0,1 mg/ml        | 0,2 mg/ml        | 0,4 mg/ml        | 0,0 mg/ml        | 0,002 mg/ml          | 0,004 mg/ml     | 0,008 mg/ml      | 0,0 mg/ml        | 0,0006 mg/ml     | 0,0012 mg/ml            | 0,0024 mg/ml    | 0,0 mg/ml        | 0,0006 mg/ml     | 0,0012 mg/ml     | 0,0024 mg/ml    |
| 0        | 56,39<br>± 9,35  | 55,76<br>± 9,31  | 53,12<br>± 9,47  | 53,00<br>± 9,89  | 57,36<br>± 9,03  | 56,39<br>± 9,87      | 55,09<br>± 9,85 | 54,18<br>± 10,01 | 58,23<br>± 8,42  | 55,42<br>± 8,26  | 55,18<br>± 8,57         | 55,54<br>± 9,28 | 58,23<br>± 8,42  | 55,42<br>± 8,26  | 55,18<br>± 8,57  | 55,54<br>± 9,28 |
| 2        | 47,07<br>± 9,61  | 47,04<br>± 9,48  | 47,30<br>± 9,95  | 47,86<br>± 10,47 | 47,34<br>± 8,66  | 46,39<br>± 10,39     | 46,54<br>± 9,17 | 47,54<br>± 10,67 | 48,10<br>± 9,41  | 47,28<br>± 8,95  | 47,04<br>± 8,88         | 46,61<br>± 7,86 | 48,10<br>± 9,41  | 47,28<br>± 8,95  | 47,04<br>± 8,88  | 46,61<br>± 7,86 |
| 4        | 46,96<br>± 9,64  | 46,15<br>± 9,92  | 46,39<br>± 10,22 | 45,74<br>± 10,60 | 47,13<br>± 9,43  | 45,44<br>± 9,89      | 45,93<br>± 9,97 | 45,72<br>± 9,99  | 46,45<br>± 9,81  | 46,48<br>± 8,94  | 46,41<br>± 9,79         | 45,24<br>± 8,62 | 46,45<br>± 9,81  | 46,48<br>± 8,94  | 46,41<br>± 9,79  | 45,24<br>± 8,62 |
| 6        | 46,03<br>± 9,46  | 45,79<br>± 10,08 | 46,00<br>± 9,78  | 44,66<br>± 10,14 | 45,83<br>± 10,27 | 45,48<br>± 10,49     | 44,93<br>± 9,45 | 44,25<br>± 10,21 | 45,42<br>± 9,24  | 46,33<br>± 9,09  | 45,36<br>± 9,37         | 44,32<br>± 8,48 | 45,42<br>± 9,24  | 46,33<br>± 9,09  | 45,36<br>± 9,37  | 44,32<br>± 8,48 |
| 8        | 46,06<br>± 9,60  | 45,76<br>± 9,82  | 45,64<br>± 9,76  | 45,07<br>± 10,52 | 45,99<br>± 9,72  | 44,31<br>± 9,77      | 45,17<br>± 9,99 | 44,38<br>± 10,03 | 46,12<br>± 8,97  | 45,49<br>± 9,73  | 45,74<br>± 8,98         | 43,64<br>± 8,92 | 46,12<br>± 8,97  | 45,49<br>± 9,73  | 45,74<br>± 8,98  | 43,64<br>± 8,92 |
| 10       | 46,54<br>± 9,20  | 46,81<br>± 9,54  | 45,74<br>± 9,63  | 45,00<br>± 10,67 | 46,19<br>± 9,88  | 45,17<br>± 9,31      | 45,60<br>± 9,36 | 43,65<br>± 8,70  | 46,58<br>± 8,58  | 46,14<br>± 9,32  | 45,34<br>± 8,98         | 43,65<br>± 9,08 | 46,58<br>± 8,58  | 46,14<br>± 9,32  | 45,34<br>± 8,98  | 43,65<br>± 9,08 |
| 12       | 45,66<br>± 10,02 | 46,08<br>± 10,44 | 45,57<br>± 9,61  | 44,26<br>± 10,79 | 46,17<br>± 9,44  | 46,04<br>± 9,64      | 45,49<br>± 9,83 | 43,06<br>± 9,81  | 46,07<br>± 8,68  | 46,23<br>± 8,99  | 44,97<br>± 9,29         | 43,23<br>± 8,67 | 46,07<br>± 8,68  | 46,23<br>± 8,99  | 44,97<br>± 9,29  | 43,23<br>± 8,67 |
| 24       | 38,38<br>± 13,56 | 41,06<br>± 9,03  | 42,03<br>± 9,47  | 40,66<br>± 11,74 | 40,13<br>± 9,18  | 39,40<br>± 8,85      | 40,06<br>± 8,61 | 38,27<br>± 7,72  | 38,33<br>± 10,87 | 39,31<br>± 10,47 | 38,93<br>± 10,05        | 36,95<br>± 8,80 | 38,33<br>± 10,87 | 39,31<br>± 10,47 | 38,93<br>± 10,05 | 36,95<br>± 8,80 |

Tabelle 32: Mittelwert und Standardabweichung des tatsächlich zurückgelegten Weges ( $\mu\text{m}$ ) in Versuch 2

| Zeit (h) | Dinoprost        |                 |                 |                 | Cloprostenol-Racemat |                 |                 |                 | Cloprostenol-Enantiomer |                  |                  |                 |
|----------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-------------------------|------------------|------------------|-----------------|
|          | 0,0 mg/ml        | 0,1 mg/ml       | 0,2 mg/ml       | 0,4 mg/ml       | 0,0 mg/ml            | 0,002 mg/ml     | 0,004 mg/ml     | 0,008 mg/ml     | 0,0 mg/ml               | 0,0006 mg/ml     | 0,0012 mg/ml     | 0,0024 mg/ml    |
| 0        | 52,00<br>± 3,36  | 53,78<br>± 3,23 | 55,84<br>± 3,52 | 56,79<br>± 2,42 | 51,54<br>± 3,22      | 53,08<br>± 4,32 | 54,77<br>± 3,02 | 56,09<br>± 3,37 | 52,13<br>± 3,52         | 54,11<br>± 2,85  | 54,94<br>± 3,27  | 56,23<br>± 3,58 |
| 2        | 51,90<br>± 3,82  | 54,86<br>± 5,52 | 59,04<br>± 5,24 | 61,44<br>± 4,24 | 50,87<br>± 4,15      | 52,10<br>± 4,97 | 53,78<br>± 4,32 | 56,29<br>± 4,95 | 51,93<br>± 4,37         | 53,66<br>± 4,77  | 55,29<br>± 5,08  | 56,28<br>± 3,92 |
| 4        | 54,60<br>± 4,86  | 58,77<br>± 6,21 | 60,05<br>± 4,63 | 61,05<br>± 4,23 | 54,57<br>± 5,66      | 55,91<br>± 5,76 | 56,99<br>± 5,46 | 55,95<br>± 4,52 | 54,33<br>± 5,84         | 56,36<br>± 6,86  | 57,06<br>± 6,55  | 56,59<br>± 5,54 |
| 6        | 54,89<br>± 7,48  | 58,21<br>± 6,10 | 60,54<br>± 5,50 | 59,96<br>± 5,24 | 56,89<br>± 6,64      | 56,35<br>± 5,09 | 57,68<br>± 5,93 | 57,01<br>± 4,92 | 56,75<br>± 5,50         | 57,28<br>± 5,76  | 58,09<br>± 5,23  | 57,63<br>± 4,14 |
| 8        | 58,04<br>± 6,21  | 59,53<br>± 5,62 | 61,07<br>± 4,87 | 59,96<br>± 4,85 | 57,78<br>± 7,79      | 58,13<br>± 7,03 | 58,60<br>± 6,89 | 55,17<br>± 4,99 | 57,94<br>± 6,48         | 58,29<br>± 5,86  | 58,44<br>± 6,20  | 57,11<br>± 4,42 |
| 10       | 58,72<br>± 7,23  | 59,84<br>± 6,21 | 60,60<br>± 5,39 | 60,35<br>± 5,80 | 58,46<br>± 7,25      | 57,89<br>± 6,68 | 58,73<br>± 6,31 | 55,80<br>± 4,28 | 58,87<br>± 6,81         | 60,04<br>± 6,76  | 60,03<br>± 5,63  | 57,19<br>± 3,56 |
| 12       | 58,30<br>± 8,31  | 59,13<br>± 6,15 | 59,97<br>± 6,14 | 59,53<br>± 5,52 | 57,59<br>± 6,49      | 58,14<br>± 6,64 | 59,17<br>± 6,49 | 55,41<br>± 4,97 | 58,93<br>± 6,31         | 58,32<br>± 7,31  | 59,88<br>± 6,02  | 56,38<br>± 3,65 |
| 24       | 52,66<br>± 10,92 | 54,79<br>± 8,49 | 55,52<br>± 5,55 | 54,94<br>± 3,67 | 53,77<br>± 9,62      | 54,30<br>± 8,95 | 54,69<br>± 8,71 | 52,83<br>± 7,59 | 53,14<br>± 10,91        | 54,12<br>± 10,17 | 54,02<br>± 10,50 | 51,43<br>± 8,32 |

Tabelle 33: Mittelwert und Standardabweichung der Länge einer geglätteten Linie ( $\mu\text{m}$ ) in Versuch 2

| Zeit (h) | Dinoprost       |                 |                 |                 |                 | Cloprostenol-Racemat |                 |                 |                 |                 | Cloprostenol-Enantiomer |                 |                 |                 |                 |                 |
|----------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|          | 0,0 mg/ml       | 0,1 mg/ml       | 0,2 mg/ml       | 0,4 mg/ml       | 0,0 mg/ml       | 0,002 mg/ml          | 0,004 mg/ml     | 0,008 mg/ml     | 0,0 mg/ml       | 0,0006 mg/ml    | 0,0012 mg/ml            | 0,0024 mg/ml    | 0,0 mg/ml       | 0,0006 mg/ml    | 0,0012 mg/ml    | 0,0024 mg/ml    |
| 0        | 30,52<br>± 2,46 | 30,54<br>± 2,18 | 30,36<br>± 2,12 | 29,15<br>± 1,37 | 30,48<br>± 2,59 | 30,92<br>± 2,90      | 31,17<br>± 2,37 | 30,69<br>± 2,20 | 30,66<br>± 2,53 | 31,40<br>± 2,20 | 31,18<br>± 2,21         | 30,91<br>± 2,03 | 30,66<br>± 2,53 | 31,40<br>± 2,20 | 31,18<br>± 2,21 | 30,91<br>± 2,03 |
| 2        | 29,58<br>± 2,30 | 29,63<br>± 2,73 | 30,02<br>± 2,24 | 28,88<br>± 1,50 | 29,18<br>± 2,49 | 29,54<br>± 2,79      | 29,68<br>± 2,44 | 29,58<br>± 2,43 | 29,72<br>± 2,56 | 30,25<br>± 2,52 | 30,28<br>± 2,47         | 29,61<br>± 1,69 | 29,72<br>± 2,56 | 30,25<br>± 2,52 | 30,28<br>± 2,47 | 29,61<br>± 1,69 |
| 4        | 29,76<br>± 2,66 | 30,26<br>± 2,68 | 29,54<br>± 2,07 | 28,36<br>± 1,53 | 29,50<br>± 2,98 | 29,88<br>± 2,86      | 29,85<br>± 2,66 | 28,75<br>± 1,95 | 29,34<br>± 2,74 | 30,21<br>± 3,13 | 29,78<br>± 2,71         | 29,02<br>± 2,37 | 29,34<br>± 2,74 | 30,21<br>± 3,13 | 29,78<br>± 2,71 | 29,02<br>± 2,37 |
| 6        | 28,99<br>± 3,43 | 29,47<br>± 2,44 | 29,26<br>± 2,05 | 27,90<br>± 1,85 | 29,56<br>± 3,07 | 29,36<br>± 2,45      | 29,62<br>± 2,85 | 28,81<br>± 2,25 | 29,71<br>± 2,57 | 29,87<br>± 2,53 | 29,84<br>± 2,33         | 29,16<br>± 2,02 | 29,71<br>± 2,57 | 29,87<br>± 2,53 | 29,84<br>± 2,33 | 29,16<br>± 2,02 |
| 8        | 29,67<br>± 2,71 | 29,47<br>± 2,45 | 29,20<br>± 2,00 | 27,81<br>± 1,69 | 29,44<br>± 3,47 | 29,78<br>± 2,90      | 29,63<br>± 2,84 | 27,85<br>± 2,28 | 29,59<br>± 2,81 | 29,83<br>± 2,39 | 29,60<br>± 2,72         | 28,80<br>± 1,82 | 29,59<br>± 2,81 | 29,83<br>± 2,39 | 29,60<br>± 2,72 | 28,80<br>± 1,82 |
| 10       | 29,56<br>± 2,90 | 29,45<br>± 2,34 | 28,91<br>± 2,06 | 27,86<br>± 1,89 | 29,69<br>± 3,03 | 29,32<br>± 2,84      | 29,44<br>± 2,81 | 28,22<br>± 1,92 | 29,64<br>± 2,83 | 30,17<br>± 2,80 | 29,94<br>± 2,41         | 28,62<br>± 1,37 | 29,64<br>± 2,83 | 30,17<br>± 2,80 | 29,94<br>± 2,41 | 28,62<br>± 1,37 |
| 12       | 29,35<br>± 3,46 | 29,29<br>± 2,45 | 28,78<br>± 2,36 | 27,69<br>± 1,84 | 29,08<br>± 2,79 | 29,19<br>± 2,70      | 29,50<br>± 2,67 | 28,04<br>± 2,21 | 29,44<br>± 2,82 | 29,31<br>± 2,91 | 29,61<br>± 2,50         | 28,19<br>± 1,70 | 29,44<br>± 2,82 | 29,31<br>± 2,91 | 29,61<br>± 2,50 | 28,19<br>± 1,70 |
| 24       | 26,50<br>± 5,18 | 27,31<br>± 3,49 | 27,10<br>± 2,03 | 26,54<br>± 1,42 | 26,99<br>± 4,30 | 27,48<br>± 3,98      | 27,68<br>± 3,69 | 26,88<br>± 3,13 | 26,62<br>± 4,93 | 27,38<br>± 4,50 | 27,21<br>± 4,44         | 26,28<br>± 3,45 | 26,62<br>± 4,93 | 27,38<br>± 4,50 | 27,21<br>± 4,44 | 26,28<br>± 3,45 |

Tabelle 34: Mittelwert und Standardabweichung der Strecke zwischen Start- und Endpunkt ( $\mu\text{m}$ ) in Versuch 2

| Zeit (h) | Dinoprost       |                 |                 |                 |                 | Cloprostenol-Racemat |                 |                 |                 |                 | Cloprostenol-Enantiomer |                 |                 |                 |                 |                 |
|----------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|          | 0,0 mg/ml       | 0,1 mg/ml       | 0,2 mg/ml       | 0,4 mg/ml       | 0,0 mg/ml       | 0,002 mg/ml          | 0,004 mg/ml     | 0,008 mg/ml     | 0,0 mg/ml       | 0,0006 mg/ml    | 0,0012 mg/ml            | 0,0024 mg/ml    | 0,0 mg/ml       | 0,0006 mg/ml    | 0,0012 mg/ml    | 0,0024 mg/ml    |
| 0        | 25,52<br>± 2,66 | 25,48<br>± 2,48 | 24,95<br>± 2,32 | 22,86<br>± 1,98 | 25,61<br>± 2,87 | 26,00<br>± 3,08      | 26,06<br>± 2,71 | 25,10<br>± 2,54 | 25,68<br>± 2,85 | 26,39<br>± 2,54 | 26,12<br>± 2,59         | 25,43<br>± 2,32 | 25,68<br>± 2,85 | 26,39<br>± 2,54 | 26,12<br>± 2,59 | 25,43<br>± 2,32 |
| 2        | 24,78<br>± 2,45 | 24,46<br>± 2,72 | 24,06<br>± 2,15 | 20,81<br>± 1,37 | 24,47<br>± 2,56 | 24,80<br>± 2,81      | 24,65<br>± 2,49 | 23,90<br>± 2,42 | 24,96<br>± 2,51 | 25,36<br>± 2,55 | 25,00<br>± 2,50         | 24,03<br>± 1,77 | 24,96<br>± 2,51 | 25,36<br>± 2,55 | 25,00<br>± 2,50 | 24,03<br>± 1,77 |
| 4        | 24,48<br>± 2,63 | 24,40<br>± 2,43 | 23,04<br>± 2,03 | 19,79<br>± 1,33 | 24,12<br>± 2,89 | 24,56<br>± 2,75      | 24,29<br>± 2,56 | 22,82<br>± 2,04 | 23,97<br>± 2,52 | 24,88<br>± 2,87 | 24,14<br>± 2,41         | 23,12<br>± 2,05 | 23,97<br>± 2,52 | 24,88<br>± 2,87 | 24,14<br>± 2,41 | 23,12<br>± 2,05 |
| 6        | 23,33<br>± 3,10 | 23,45<br>± 2,09 | 22,36<br>± 1,75 | 19,19<br>± 1,30 | 23,76<br>± 2,87 | 23,63<br>± 2,38      | 23,62<br>± 2,78 | 22,51<br>± 2,31 | 23,93<br>± 2,37 | 24,22<br>± 2,41 | 23,95<br>± 2,24         | 22,93<br>± 2,13 | 23,93<br>± 2,37 | 24,22<br>± 2,41 | 23,95<br>± 2,24 | 22,93<br>± 2,13 |
| 8        | 23,52<br>± 2,54 | 22,96<br>± 2,19 | 21,97<br>± 1,69 | 18,80<br>± 1,25 | 23,27<br>± 3,01 | 23,70<br>± 2,47      | 23,49<br>± 2,58 | 21,48<br>± 2,25 | 23,42<br>± 2,50 | 23,77<br>± 2,03 | 23,40<br>± 2,39         | 22,46<br>± 1,81 | 23,42<br>± 2,50 | 23,77<br>± 2,03 | 23,40<br>± 2,39 | 22,46<br>± 1,81 |
| 10       | 22,90<br>± 2,56 | 22,72<br>± 1,85 | 21,50<br>± 1,65 | 18,64<br>± 1,37 | 23,36<br>± 2,71 | 23,15<br>± 2,49      | 23,06<br>± 2,43 | 21,73<br>± 1,79 | 23,13<br>± 2,44 | 23,89<br>± 2,44 | 23,44<br>± 2,24         | 22,05<br>± 1,53 | 23,13<br>± 2,44 | 23,89<br>± 2,44 | 23,44<br>± 2,24 | 22,05<br>± 1,53 |
| 12       | 22,88<br>± 2,80 | 22,70<br>± 2,03 | 21,51<br>± 1,84 | 18,59<br>± 1,31 | 22,66<br>± 2,37 | 22,82<br>± 2,33      | 22,99<br>± 2,33 | 21,62<br>± 2,12 | 22,70<br>± 2,66 | 23,04<br>± 2,33 | 23,01<br>± 2,13         | 21,58<br>± 1,71 | 22,70<br>± 2,66 | 23,04<br>± 2,33 | 23,01<br>± 2,13 | 21,58<br>± 1,71 |
| 24       | 20,27<br>± 4,16 | 20,98<br>± 2,71 | 19,94<br>± 1,87 | 17,61<br>± 1,27 | 20,67<br>± 3,56 | 21,67<br>± 3,32      | 21,67<br>± 3,07 | 20,70<br>± 2,53 | 20,54<br>± 3,95 | 21,49<br>± 3,73 | 21,17<br>± 3,51         | 20,12<br>± 2,61 | 20,54<br>± 3,95 | 21,49<br>± 3,73 | 21,17<br>± 3,51 | 20,12<br>± 2,61 |

Tabelle 35: Mittelwert und Standardabweichung der Kurvilinearen Geschwindigkeit ( $\mu\text{m/s}$ ) in Versuch 2

| Zeit (h)  | Dinoprost         |                   |                   |                   |                   | Cloprostenol-Racemat |                   |                   |                   |                   | Cloprostenol-Enantiomer |                   |                   |                   |                   |                   |
|-----------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|----------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|           | 0,0 mg/ml         | 0,1 mg/ml         | 0,2 mg/ml         | 0,4 mg/ml         | 0,0 mg/ml         | 0,002 mg/ml          | 0,004 mg/ml       | 0,008 mg/ml       | 0,0 mg/ml         | 0,0006 mg/ml      | 0,0012 mg/ml            | 0,0024 mg/ml      | 0,0 mg/ml         | 0,0006 mg/ml      | 0,0012 mg/ml      | 0,0024 mg/ml      |
| <b>0</b>  | 119,40<br>± 8,07  | 123,34<br>± 8,04  | 128,04<br>± 9,14  | 129,70<br>± 6,05  | 118,44<br>± 7,86  | 121,72<br>± 10,50    | 125,96<br>± 7,12  | 128,72<br>± 7,47  | 119,62<br>± 8,55  | 124,48<br>± 7,58  | 126,21<br>± 7,96        | 128,80<br>± 8,53  | 119,62<br>± 8,55  | 124,48<br>± 7,58  | 126,21<br>± 7,96  | 128,80<br>± 8,53  |
| <b>2</b>  | 118,70<br>± 9,16  | 125,72<br>± 12,62 | 135,02<br>± 12,29 | 140,11<br>± 9,16  | 116,32<br>± 9,70  | 119,49<br>± 12,42    | 123,05<br>± 10,78 | 128,30<br>± 11,11 | 118,82<br>± 10,82 | 122,97<br>± 11,74 | 126,26<br>± 12,12       | 128,26<br>± 9,02  | 118,82<br>± 10,82 | 122,97<br>± 11,74 | 126,26<br>± 12,12 | 128,26<br>± 9,02  |
| <b>4</b>  | 125,30<br>± 11,55 | 134,89<br>± 14,35 | 137,37<br>± 10,59 | 138,40<br>± 8,90  | 125,27<br>± 13,15 | 127,93<br>± 13,32    | 130,69<br>± 12,79 | 129,49<br>± 10,60 | 124,88<br>± 14,37 | 129,21<br>± 16,19 | 130,72<br>± 15,45       | 129,11<br>± 13,34 | 124,88<br>± 14,37 | 129,21<br>± 16,19 | 130,72<br>± 15,45 | 129,11<br>± 13,34 |
| <b>6</b>  | 126,57<br>± 17,52 | 133,96<br>± 14,28 | 138,52<br>± 12,54 | 135,90<br>± 11,26 | 130,85<br>± 15,19 | 129,37<br>± 12,02    | 132,89<br>± 13,58 | 129,86<br>± 10,93 | 130,84<br>± 13,04 | 131,57<br>± 13,59 | 133,20<br>± 12,21       | 131,37<br>± 9,91  | 130,84<br>± 13,04 | 131,57<br>± 13,59 | 133,20<br>± 12,21 | 131,37<br>± 9,91  |
| <b>8</b>  | 133,88<br>± 14,95 | 136,92<br>± 13,52 | 139,39<br>± 11,16 | 135,86<br>± 10,94 | 133,45<br>± 18,57 | 133,95<br>± 16,84    | 134,65<br>± 16,03 | 125,74<br>± 11,68 | 133,90<br>± 15,52 | 134,25<br>± 14,04 | 134,42<br>± 14,58       | 129,89<br>± 10,21 | 133,90<br>± 15,52 | 134,25<br>± 14,04 | 134,42<br>± 14,58 | 129,89<br>± 10,21 |
| <b>10</b> | 135,93<br>± 17,51 | 137,77<br>± 14,84 | 138,55<br>± 12,51 | 136,53<br>± 12,69 | 134,73<br>± 16,76 | 133,39<br>± 16,05    | 134,76<br>± 14,63 | 127,27<br>± 9,80  | 135,72<br>± 16,33 | 138,04<br>± 16,42 | 138,29<br>± 13,30       | 130,34<br>± 8,32  | 135,72<br>± 16,33 | 138,04<br>± 16,42 | 138,29<br>± 13,30 | 130,34<br>± 8,32  |
| <b>12</b> | 134,81<br>± 20,39 | 136,01<br>± 14,40 | 137,19<br>± 14,04 | 134,61<br>± 12,09 | 133,03<br>± 15,32 | 133,90<br>± 15,52    | 136,20<br>± 15,05 | 126,11<br>± 11,47 | 136,25<br>± 15,45 | 134,21<br>± 17,58 | 137,80<br>± 14,65       | 128,65<br>± 8,81  | 136,25<br>± 15,45 | 134,21<br>± 17,58 | 137,80<br>± 14,65 | 128,65<br>± 8,81  |
| <b>24</b> | 121,00<br>± 25,85 | 125,11<br>± 20,41 | 126,08<br>± 13,24 | 123,37<br>± 8,12  | 123,21<br>± 22,89 | 124,05<br>± 21,10    | 124,73<br>± 20,28 | 119,61<br>± 17,38 | 121,67<br>± 25,86 | 124,45<br>± 24,68 | 123,45<br>± 24,63       | 116,26<br>± 19,49 | 121,67<br>± 25,86 | 124,45<br>± 24,68 | 123,45<br>± 24,63 | 116,26<br>± 19,49 |

Tabelle 36: Mittelwert und Standardabweichung der Mittleren Geschwindigkeit ( $\mu\text{m/s}$ ) in Versuch 2

| Zeit (h) | Dinoprost        |                 |                 |                 |                  | Cloprostenol-Racemat |                 |                 |                  |                  | Cloprostenol-Enantiomer |                 |                  |                  |                  |                 |
|----------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|----------------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|-------------------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|-----------------|
|          | 0,0 mg/ml        | 0,1 mg/ml       | 0,2 mg/ml       | 0,4 mg/ml       | 0,0 mg/ml        | 0,002 mg/ml          | 0,004 mg/ml     | 0,008 mg/ml     | 0,0 mg/ml        | 0,0006 mg/ml     | 0,0012 mg/ml            | 0,0024 mg/ml    | 0,0 mg/ml        | 0,0006 mg/ml     | 0,0012 mg/ml     | 0,0024 mg/ml    |
| 0        | 70,16<br>± 5,64  | 70,15<br>± 5,18 | 69,76<br>± 5,23 | 66,77<br>± 3,19 | 70,15<br>± 6,07  | 71,05<br>± 6,87      | 71,82<br>± 5,52 | 70,62<br>± 4,91 | 70,44<br>± 5,82  | 72,37<br>± 5,30  | 71,77<br>± 5,14         | 70,93<br>± 4,62 | 70,44<br>± 5,82  | 72,37<br>± 5,30  | 71,77<br>± 5,14  | 70,93<br>± 4,62 |
| 2        | 67,76<br>± 5,21  | 68,02<br>± 6,08 | 68,88<br>± 5,20 | 66,25<br>± 3,10 | 66,80<br>± 5,53  | 67,86<br>± 6,65      | 68,03<br>± 5,80 | 67,59<br>± 5,38 | 68,08<br>± 6,11  | 69,44<br>± 5,99  | 69,03<br>± 5,63         | 67,66<br>± 3,78 | 68,08<br>± 6,11  | 69,44<br>± 5,99  | 69,03<br>± 5,63  | 67,66<br>± 3,78 |
| 4        | 68,43<br>± 6,11  | 69,63<br>± 6,12 | 67,84<br>± 4,69 | 64,72<br>± 3,15 | 67,84<br>± 6,74  | 68,47<br>± 6,46      | 68,63<br>± 6,10 | 65,75<br>± 4,42 | 67,55<br>± 6,62  | 69,39<br>± 7,33  | 68,41<br>± 6,45         | 66,42<br>± 5,72 | 67,55<br>± 6,62  | 69,39<br>± 7,33  | 68,41<br>± 6,45  | 66,42<br>± 5,72 |
| 6        | 66,99<br>± 7,88  | 68,05<br>± 5,73 | 67,28<br>± 4,68 | 63,66<br>± 3,90 | 68,15<br>± 6,96  | 67,60<br>± 5,74      | 68,42<br>± 6,45 | 65,89<br>± 4,99 | 68,67<br>± 6,08  | 68,81<br>± 5,87  | 68,62<br>± 5,35         | 66,67<br>± 4,68 | 68,67<br>± 6,08  | 68,81<br>± 5,87  | 68,62<br>± 5,35  | 66,67<br>± 4,68 |
| 8        | 68,62<br>± 6,46  | 68,02<br>± 5,82 | 66,96<br>± 4,51 | 63,45<br>± 3,80 | 68,17<br>± 8,27  | 68,84<br>± 7,03      | 68,32<br>± 6,68 | 63,69<br>± 5,22 | 68,56<br>± 6,69  | 68,89<br>± 5,75  | 68,28<br>± 6,43         | 65,74<br>± 4,20 | 68,56<br>± 6,69  | 68,89<br>± 5,75  | 68,28<br>± 6,43  | 65,74<br>± 4,20 |
| 10       | 68,63<br>± 7,10  | 68,04<br>± 5,62 | 66,41<br>± 4,81 | 63,49<br>± 4,15 | 68,65<br>± 6,97  | 67,78<br>± 6,83      | 67,78<br>± 6,51 | 64,60<br>± 4,40 | 68,55<br>± 6,77  | 69,58<br>± 6,86  | 69,16<br>± 5,66         | 65,47<br>± 3,05 | 68,55<br>± 6,77  | 69,58<br>± 6,86  | 69,16<br>± 5,66  | 65,47<br>± 3,05 |
| 12       | 68,06<br>± 8,59  | 67,63<br>± 5,73 | 66,16<br>5,45   | 63,07<br>± 3,93 | 67,39<br>± 6,54  | 67,44<br>± 6,30      | 68,15<br>± 6,17 | 64,05<br>± 4,95 | 68,30<br>± 6,90  | 67,69<br>± 7,10  | 68,42<br>± 6,16         | 64,56<br>± 3,91 | 68,30<br>± 6,90  | 67,69<br>± 7,10  | 68,42<br>± 6,16  | 64,56<br>± 3,91 |
| 24       | 61,14<br>± 12,26 | 62,60<br>± 8,50 | 61,85<br>± 4,83 | 60,00<br>± 3,09 | 62,07<br>± 10,28 | 63,01<br>± 9,44      | 63,36<br>± 8,61 | 61,09<br>± 7,15 | 61,15<br>± 11,73 | 63,14<br>± 11,02 | 62,40<br>± 10,54        | 59,65<br>± 8,25 | 61,15<br>± 11,73 | 63,14<br>± 11,02 | 62,40<br>± 10,54 | 59,65<br>± 8,25 |

Tabelle 37: Mittelwert und Standardabweichung der Linearen Geschwindigkeit ( $\mu\text{m/s}$ ) in Versuch 2

| Zeit (h) | Dinoprost       |                 |                 |                 | Cloprostenol-Racemat |                 |                 |                 | Cloprostenol-Enantiomer |                 |                 |                 |
|----------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|          | 0,0 mg/ml       | 0,1 mg/ml       | 0,2 mg/ml       | 0,4 mg/ml       | 0,0 mg/ml            | 0,002 mg/ml     | 0,004 mg/ml     | 0,008 mg/ml     | 0,0 mg/ml               | 0,0006 mg/ml    | 0,0012 mg/ml    | 0,0024 mg/ml    |
| 0        | 58,76<br>± 6,03 | 58,58<br>± 5,76 | 57,40<br>± 5,55 | 52,37<br>± 4,48 | 59,07<br>± 6,67      | 59,83<br>± 7,20 | 60,13<br>± 6,28 | 57,84<br>± 5,69 | 59,07<br>± 6,44         | 60,92<br>± 5,98 | 60,19<br>± 5,93 | 58,40<br>± 5,25 |
| 2        | 56,80<br>± 5,43 | 56,19<br>± 6,03 | 55,20<br>± 4,85 | 47,68<br>± 2,88 | 56,08<br>± 5,60      | 57,03<br>± 6,55 | 56,54<br>± 5,79 | 54,64<br>± 5,34 | 57,22<br>± 5,93         | 58,26<br>± 5,91 | 57,21<br>± 5,51 | 54,92<br>± 3,83 |
| 4        | 56,34<br>± 5,95 | 56,14<br>± 5,45 | 52,87<br>± 4,55 | 45,11<br>± 2,77 | 55,51<br>± 6,54      | 56,30<br>± 6,16 | 55,86<br>± 5,77 | 52,15<br>± 4,54 | 55,21<br>± 5,91         | 57,17<br>± 6,57 | 55,47<br>± 5,68 | 52,90<br>± 4,86 |
| 6        | 53,95<br>± 7,03 | 54,15<br>± 4,87 | 51,37<br>± 4,00 | 43,74<br>± 2,69 | 54,77<br>± 6,46      | 54,43<br>± 5,53 | 54,59<br>± 6,29 | 51,48<br>± 5,18 | 55,32<br>± 5,52         | 55,81<br>± 5,50 | 55,06<br>± 5,05 | 52,41<br>± 4,83 |
| 8        | 54,42<br>± 5,91 | 52,97<br>± 5,08 | 50,35<br>± 3,78 | 42,87<br>± 2,80 | 53,93<br>± 7,09      | 54,82<br>± 5,92 | 54,15<br>± 6,03 | 49,12<br>± 5,09 | 54,27<br>± 5,84         | 54,90<br>± 4,82 | 53,97<br>± 5,59 | 51,22<br>± 4,17 |
| 10       | 53,16<br>± 6,18 | 52,44<br>± 4,37 | 49,31<br>± 3,76 | 42,40<br>± 2,96 | 53,98<br>± 6,14      | 53,52<br>± 5,89 | 53,04<br>± 5,66 | 49,67<br>± 4,08 | 53,51<br>± 5,72         | 55,10<br>± 5,94 | 54,14<br>± 5,18 | 50,38<br>± 3,45 |
| 12       | 53,05<br>± 6,85 | 52,39<br>± 4,64 | 49,38<br>± 4,18 | 42,31<br>± 2,74 | 52,49<br>± 5,51      | 52,74<br>± 5,39 | 53,10<br>± 5,35 | 49,33<br>± 4,72 | 52,66<br>± 6,43         | 53,19<br>± 5,56 | 53,15<br>± 5,19 | 49,37<br>± 3,77 |
| 24       | 46,76<br>± 9,77 | 48,02<br>± 6,51 | 45,44<br>± 4,27 | 39,80<br>± 2,81 | 47,53<br>± 8,46      | 49,64<br>± 7,80 | 49,54<br>± 7,07 | 46,95<br>± 5,63 | 47,18<br>± 9,34         | 49,57<br>± 9,03 | 48,54<br>± 8,25 | 45,63<br>± 6,18 |

Tabelle 38: Mittelwert und Standardabweichung der Linearität in Versuch 2

| Zeit (h) | Dinoprost      |                |                |                |                | Cloprostenol-Racemat |                |                |                |                | Cloprostenol-Enantiomer |                |                |                |                |                |
|----------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|          | 0,0 mg/ml      | 0,1 mg/ml      | 0,2 mg/ml      | 0,4 mg/ml      | 0,0 mg/ml      | 0,002 mg/ml          | 0,004 mg/ml    | 0,008 mg/ml    | 0,0 mg/ml      | 0,0006 mg/ml   | 0,0012 mg/ml            | 0,0024 mg/ml   | 0,0 mg/ml      | 0,0006 mg/ml   | 0,0012 mg/ml   | 0,0024 mg/ml   |
| 0        | 0,49<br>± 0,03 | 0,47<br>± 0,04 | 0,44<br>± 0,03 | 0,40<br>± 0,03 | 0,49<br>± 0,04 | 0,49<br>± 0,03       | 0,47<br>± 0,04 | 0,44<br>± 0,03 | 0,49<br>± 0,04 | 0,48<br>± 0,04 | 0,47<br>± 0,04          | 0,45<br>± 0,03 | 0,49<br>± 0,04 | 0,48<br>± 0,04 | 0,47<br>± 0,04 | 0,45<br>± 0,03 |
| 2        | 0,47<br>± 0,03 | 0,44<br>± 0,02 | 0,41<br>± 0,02 | 0,34<br>± 0,02 | 0,48<br>± 0,03 | 0,47<br>± 0,03       | 0,45<br>± 0,03 | 0,42<br>± 0,02 | 0,48<br>± 0,03 | 0,47<br>± 0,03 | 0,45<br>± 0,03          | 0,42<br>± 0,02 | 0,48<br>± 0,03 | 0,47<br>± 0,03 | 0,45<br>± 0,03 | 0,42<br>± 0,02 |
| 4        | 0,45<br>± 0,02 | 0,41<br>± 0,02 | 0,38<br>± 0,02 | 0,32<br>± 0,01 | 0,44<br>± 0,02 | 0,44<br>± 0,02       | 0,42<br>± 0,02 | 0,41<br>± 0,02 | 0,44<br>± 0,02 | 0,44<br>± 0,02 | 0,42<br>± 0,02          | 0,41<br>± 0,02 | 0,44<br>± 0,02 | 0,44<br>± 0,02 | 0,42<br>± 0,02 | 0,41<br>± 0,02 |
| 6        | 0,42<br>± 0,02 | 0,40<br>± 0,02 | 0,37<br>± 0,01 | 0,32<br>± 0,01 | 0,41<br>± 0,02 | 0,42<br>± 0,01       | 0,41<br>± 0,01 | 0,39<br>± 0,03 | 0,41<br>± 0,02 | 0,42<br>± 0,02 | 0,41<br>± 0,01          | 0,39<br>± 0,03 | 0,42<br>± 0,02 | 0,42<br>± 0,02 | 0,41<br>± 0,01 | 0,39<br>± 0,02 |
| 8        | 0,40<br>± 0,02 | 0,38<br>± 0,01 | 0,36<br>± 0,02 | 0,31<br>± 0,01 | 0,40<br>± 0,02 | 0,41<br>± 0,02       | 0,40<br>± 0,02 | 0,39<br>± 0,02 | 0,40<br>± 0,02 | 0,41<br>± 0,01 | 0,40<br>± 0,02          | 0,39<br>± 0,02 | 0,40<br>± 0,02 | 0,41<br>± 0,01 | 0,40<br>± 0,02 | 0,39<br>± 0,02 |
| 10       | 0,39<br>± 0,02 | 0,38<br>± 0,01 | 0,35<br>± 0,01 | 0,31<br>± 0,01 | 0,40<br>± 0,02 | 0,40<br>± 0,01       | 0,39<br>± 0,02 | 0,39<br>± 0,02 | 0,40<br>± 0,01 | 0,40<br>± 0,01 | 0,39<br>± 0,02          | 0,39<br>± 0,02 | 0,39<br>± 0,02 | 0,40<br>± 0,01 | 0,39<br>± 0,02 | 0,38<br>± 0,03 |
| 12       | 0,39<br>± 0,03 | 0,38<br>± 0,01 | 0,36<br>± 0,01 | 0,31<br>± 0,02 | 0,39<br>± 0,02 | 0,39<br>± 0,01       | 0,39<br>± 0,01 | 0,39<br>± 0,02 | 0,39<br>± 0,02 | 0,39<br>± 0,01 | 0,39<br>± 0,01          | 0,39<br>± 0,02 | 0,39<br>± 0,02 | 0,39<br>± 0,01 | 0,38<br>± 0,02 | 0,38<br>± 0,02 |
| 24       | 0,38<br>± 0,02 | 0,38<br>± 0,03 | 0,36<br>± 0,02 | 0,32<br>± 0,01 | 0,38<br>± 0,02 | 0,40<br>± 0,02       | 0,39<br>± 0,02 | 0,39<br>± 0,02 | 0,40<br>± 0,02 | 0,40<br>± 0,01 | 0,39<br>± 0,02          | 0,39<br>± 0,02 | 0,39<br>± 0,02 | 0,40<br>± 0,01 | 0,39<br>± 0,03 | 0,39<br>± 0,03 |



Tabelle 39: Mittelwert und Standardabweichung der Geradlinigkeit des durchschnittl. Bewegungsablaufes in Versuch 2

| Zeit (h) | Dinoprost      |                |                |                | Cloprostenol-Racemat |                |                |                | Cloprostenol-Enantiomer |                |                |                |
|----------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------------|----------------|----------------|----------------|-------------------------|----------------|----------------|----------------|
|          | 0,0 mg/ml      | 0,1 mg/ml      | 0,2 mg/ml      | 0,4 mg/ml      | 0,0 mg/ml            | 0,002 mg/ml    | 0,004 mg/ml    | 0,008 mg/ml    | 0,0 mg/ml               | 0,0006 mg/ml   | 0,0012 mg/ml   | 0,0024 mg/ml   |
| 0        | 0,83<br>± 0,02 | 0,83<br>± 0,03 | 0,82<br>± 0,03 | 0,78<br>± 0,04 | 0,83<br>± 0,03       | 0,83<br>± 0,03 | 0,83<br>± 0,03 | 0,81<br>± 0,03 | 0,83<br>± 0,03          | 0,84<br>± 0,03 | 0,83<br>± 0,03 | 0,82<br>± 0,03 |
| 2        | 0,83<br>± 0,02 | 0,82<br>± 0,02 | 0,80<br>± 0,02 | 0,71<br>± 0,02 | 0,83<br>± 0,02       | 0,83<br>± 0,02 | 0,83<br>± 0,02 | 0,80<br>± 0,02 | 0,84<br>± 0,02          | 0,83<br>± 0,02 | 0,82<br>± 0,02 | 0,81<br>± 0,02 |
| 4        | 0,82<br>± 0,02 | 0,80<br>± 0,02 | 0,77<br>± 0,02 | 0,69<br>± 0,02 | 0,81<br>± 0,02       | 0,82<br>± 0,02 | 0,81<br>± 0,02 | 0,79<br>± 0,02 | 0,81<br>± 0,02          | 0,82<br>± 0,01 | 0,81<br>± 0,01 | 0,79<br>± 0,02 |
| 6        | 0,80<br>± 0,02 | 0,79<br>± 0,01 | 0,76<br>± 0,02 | 0,68<br>± 0,02 | 0,80<br>± 0,02       | 0,80<br>± 0,02 | 0,79<br>± 0,02 | 0,77<br>± 0,03 | 0,80<br>± 0,02          | 0,81<br>± 0,01 | 0,80<br>± 0,02 | 0,78<br>± 0,02 |
| 8        | 0,79<br>± 0,02 | 0,77<br>± 0,02 | 0,75<br>± 0,02 | 0,67<br>± 0,02 | 0,79<br>± 0,01       | 0,79<br>± 0,01 | 0,79<br>± 0,02 | 0,76<br>± 0,03 | 0,79<br>± 0,02          | 0,79<br>± 0,01 | 0,79<br>± 0,01 | 0,77<br>± 0,02 |
| 10       | 0,77<br>± 0,03 | 0,77<br>± 0,01 | 0,74<br>± 0,02 | 0,66<br>± 0,02 | 0,78<br>± 0,02       | 0,78<br>± 0,01 | 0,78<br>± 0,02 | 0,76<br>± 0,03 | 0,78<br>± 0,02          | 0,79<br>± 0,01 | 0,78<br>± 0,02 | 0,76<br>± 0,03 |
| 12       | 0,78<br>± 0,02 | 0,77<br>± 0,02 | 0,74<br>± 0,01 | 0,67<br>± 0,03 | 0,77<br>± 0,02       | 0,78<br>± 0,01 | 0,77<br>± 0,01 | 0,76<br>± 0,02 | 0,77<br>± 0,03          | 0,78<br>± 0,02 | 0,77<br>± 0,01 | 0,76<br>± 0,02 |
| 24       | 0,76<br>± 0,03 | 0,76<br>± 0,03 | 0,73<br>± 0,03 | 0,66<br>± 0,03 | 0,76<br>± 0,02       | 0,78<br>± 0,02 | 0,78<br>± 0,02 | 0,76<br>± 0,02 | 0,77<br>± 0,02          | 0,78<br>± 0,02 | 0,77<br>± 0,02 | 0,76<br>± 0,02 |

Tabelle 40: Mittelwert und Standardabweichung der Auslenkung der Spermienbewegung in Versuch 2

| Zeit (h) | Dinoprost      |                |                |                | Cloprostenol-Racemat |                |                |                | Cloprostenol-Enantiomer |                |                |                |
|----------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------------|----------------|----------------|----------------|-------------------------|----------------|----------------|----------------|
|          | 0,0 mg/ml      | 0,1 mg/ml      | 0,2 mg/ml      | 0,4 mg/ml      | 0,0 mg/ml            | 0,002 mg/ml    | 0,004 mg/ml    | 0,008 mg/ml    | 0,0 mg/ml               | 0,0006 mg/ml   | 0,0012 mg/ml   | 0,0024 mg/ml   |
| 0        | 0,58<br>± 0,03 | 0,56<br>± 0,02 | 0,54<br>± 0,02 | 0,51<br>± 0,02 | 0,59<br>± 0,03       | 0,58<br>± 0,02 | 0,57<br>± 0,02 | 0,54<br>± 0,02 | 0,59<br>± 0,03          | 0,58<br>± 0,03 | 0,56<br>± 0,03 | 0,55<br>± 0,02 |
| 2        | 0,57<br>± 0,02 | 0,54<br>± 0,02 | 0,51<br>± 0,02 | 0,47<br>± 0,02 | 0,57<br>± 0,02       | 0,56<br>± 0,02 | 0,55<br>± 0,02 | 0,52<br>± 0,02 | 0,57<br>± 0,02          | 0,56<br>± 0,02 | 0,54<br>± 0,02 | 0,52<br>± 0,02 |
| 4        | 0,54<br>± 0,02 | 0,51<br>± 0,02 | 0,49<br>± 0,01 | 0,46<br>± 0,01 | 0,54<br>± 0,02       | 0,53<br>± 0,02 | 0,52<br>± 0,01 | 0,51<br>± 0,02 | 0,54<br>± 0,02          | 0,53<br>± 0,02 | 0,52<br>± 0,02 | 0,51<br>± 0,02 |
| 6        | 0,53<br>± 0,02 | 0,50<br>± 0,02 | 0,48<br>± 0,01 | 0,46<br>± 0,02 | 0,52<br>± 0,01       | 0,52<br>± 0,01 | 0,51<br>± 0,01 | 0,50<br>± 0,02 | 0,52<br>± 0,02          | 0,52<br>± 0,02 | 0,51<br>± 0,02 | 0,50<br>± 0,02 |
| 8        | 0,51<br>± 0,02 | 0,49<br>± 0,01 | 0,48<br>± 0,01 | 0,46<br>± 0,02 | 0,51<br>± 0,02       | 0,51<br>± 0,02 | 0,50<br>± 0,02 | 0,50<br>± 0,02 | 0,51<br>± 0,01          | 0,51<br>± 0,02 | 0,50<br>± 0,01 | 0,50<br>± 0,02 |
| 10       | 0,50<br>± 0,02 | 0,49<br>± 0,02 | 0,48<br>± 0,01 | 0,46<br>± 0,02 | 0,51<br>± 0,02       | 0,51<br>± 0,02 | 0,50<br>± 0,01 | 0,50<br>± 0,01 | 0,50<br>± 0,02          | 0,50<br>± 0,01 | 0,50<br>± 0,01 | 0,50<br>± 0,02 |
| 12       | 0,50<br>± 0,02 | 0,49<br>± 0,01 | 0,48<br>± 0,01 | 0,47<br>± 0,02 | 0,50<br>± 0,01       | 0,50<br>± 0,02 | 0,50<br>± 0,02 | 0,50<br>± 0,02 | 0,50<br>± 0,01          | 0,50<br>± 0,02 | 0,49<br>± 0,02 | 0,50<br>± 0,01 |
| 24       | 0,50<br>± 0,01 | 0,50<br>± 0,02 | 0,49<br>± 0,02 | 0,48<br>± 0,02 | 0,50<br>± 0,02       | 0,51<br>± 0,02 | 0,51<br>± 0,02 | 0,51<br>± 0,02 | 0,50<br>± 0,02          | 0,51<br>± 0,02 | 0,51<br>± 0,02 | 0,51<br>± 0,02 |

Tabelle 41: Mittelwert und Standardabweichung der Frequenz der lateralen Kopfbewegung (Hz) in Versuch 2

| Zeit (h) | Dinoprost       |                 |                 |                 |                 | Cloprostenol-Racemat |                 |                 |                 |                 | Cloprostenol-Enantiomer |                 |           |              |              |              |
|----------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-------------------------|-----------------|-----------|--------------|--------------|--------------|
|          | 0,0 mg/ml       | 0,1 mg/ml       | 0,2 mg/ml       | 0,4 mg/ml       | 0,0 mg/ml       | 0,002 mg/ml          | 0,004 mg/ml     | 0,008 mg/ml     | 0,0 mg/ml       | 0,0006 mg/ml    | 0,0012 mg/ml            | 0,0024 mg/ml    | 0,0 mg/ml | 0,0006 mg/ml | 0,0012 mg/ml | 0,0024 mg/ml |
| 0        | 31,01<br>± 2,53 | 30,16<br>± 2,38 | 28,73<br>± 2,21 | 25,75<br>± 1,92 | 31,12<br>± 2,42 | 30,92<br>± 2,42      | 30,37<br>± 2,49 | 28,47<br>± 2,12 | 31,14<br>± 2,74 | 30,93<br>± 2,41 | 30,09<br>± 2,43         | 28,70<br>± 2,30 |           |              |              |              |
| 2        | 30,37<br>± 2,17 | 28,31<br>± 1,64 | 26,16<br>± 1,33 | 22,47<br>± 1,17 | 30,33<br>± 1,78 | 30,21<br>± 1,73      | 28,84<br>± 1,52 | 26,56<br>± 1,12 | 30,44<br>± 1,79 | 30,09<br>± 1,77 | 28,68<br>± 1,49         | 26,57<br>± 1,29 |           |              |              |              |
| 4        | 28,81<br>± 1,69 | 26,82<br>± 1,14 | 24,73<br>± 0,89 | 21,70<br>± 0,94 | 28,66<br>± 1,72 | 28,46<br>± 1,51      | 27,49<br>± 1,36 | 25,62<br>± 0,96 | 28,50<br>± 1,38 | 28,53<br>± 1,39 | 27,29<br>± 1,01         | 25,64<br>± 1,13 |           |              |              |              |
| 6        | 27,59<br>± 1,63 | 26,01<br>± 0,96 | 24,02<br>± 0,93 | 21,16<br>± 0,87 | 27,67<br>± 1,31 | 27,14<br>± 1,28      | 26,48<br>± 1,21 | 24,91<br>± 1,11 | 27,69<br>± 1,27 | 27,54<br>± 1,08 | 26,60<br>± 1,00         | 24,92<br>± 0,85 |           |              |              |              |
| 8        | 26,70<br>± 1,18 | 25,16<br>± 1,02 | 23,50<br>± 0,74 | 21,03<br>± 0,77 | 26,78<br>± 1,22 | 26,66<br>± 0,99      | 25,97<br>± 0,94 | 24,34<br>± 0,98 | 26,74<br>± 1,19 | 26,53<br>± 0,91 | 25,85<br>± 0,91         | 24,58<br>± 0,79 |           |              |              |              |
| 10       | 25,84<br>± 1,07 | 24,63<br>± 0,95 | 23,15<br>± 0,67 | 20,68<br>± 0,65 | 26,13<br>± 1,22 | 25,97<br>± 1,04      | 25,41<br>± 0,89 | 24,00<br>± 0,74 | 26,05<br>± 1,04 | 26,01<br>± 0,90 | 25,46<br>± 0,87         | 24,12<br>± 0,84 |           |              |              |              |
| 12       | 25,71<br>± 0,98 | 24,64<br>± 0,96 | 23,14<br>± 0,83 | 20,79<br>± 0,81 | 25,70<br>± 1,22 | 25,41<br>± 0,98      | 25,03<br>± 0,77 | 24,09<br>± 0,99 | 25,53<br>± 1,06 | 25,57<br>± 0,89 | 24,84<br>± 0,89         | 23,94<br>± 0,87 |           |              |              |              |
| 24       | 23,85<br>± 1,60 | 23,64<br>± 0,87 | 22,34<br>± 0,84 | 20,08<br>± 0,44 | 24,22<br>± 1,02 | 24,63<br>± 0,89      | 24,27<br>± 0,71 | 23,35<br>± 1,17 | 24,32<br>± 1,41 | 24,39<br>± 1,10 | 24,15<br>± 0,94         | 23,32<br>± 1,07 |           |              |              |              |

Tabelle 42: Mittelwert und Standardabweichung der Amplitude der lateralen Kopfbewegungen ( $\mu\text{m}$ ) in Versuch 2

| Zeit (h) | Dinoprost          |                    |                    |                    |                    | Cloprostenol-Racemat |                    |                    |                    |                    | Cloprostenol-Enantiomer |                    |                    |                    |                    |                    |
|----------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|----------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
|          | 0,0 mg/ml          | 0,1 mg/ml          | 0,2 mg/ml          | 0,4 mg/ml          | 0,0 mg/ml          | 0,002 mg/ml          | 0,004 mg/ml        | 0,008 mg/ml        | 0,0 mg/ml          | 0,0006 mg/ml       | 0,0012 mg/ml            | 0,0024 mg/ml       | 0,0 mg/ml          | 0,0006 mg/ml       | 0,0012 mg/ml       | 0,0024 mg/ml       |
| 0        | 3,95<br>$\pm 0,27$ | 4,04<br>$\pm 0,29$ | 4,24<br>$\pm 0,31$ | 4,61<br>$\pm 0,33$ | 3,94<br>$\pm 0,28$ | 4,00<br>$\pm 0,23$   | 4,14<br>$\pm 0,29$ | 4,36<br>$\pm 0,23$ | 3,97<br>$\pm 0,38$ | 4,04<br>$\pm 0,33$ | 4,12<br>$\pm 0,30$      | 4,32<br>$\pm 0,30$ | 3,97<br>$\pm 0,38$ | 4,04<br>$\pm 0,33$ | 4,12<br>$\pm 0,30$ | 4,32<br>$\pm 0,30$ |
| 2        | 3,87<br>$\pm 0,32$ | 4,17<br>$\pm 0,29$ | 4,65<br>$\pm 0,38$ | 5,48<br>$\pm 0,33$ | 3,81<br>$\pm 0,29$ | 3,90<br>$\pm 0,35$   | 4,10<br>$\pm 0,35$ | 4,43<br>$\pm 0,30$ | 3,88<br>$\pm 0,31$ | 4,04<br>$\pm 0,35$ | 4,17<br>$\pm 0,39$      | 4,41<br>$\pm 0,36$ | 3,88<br>$\pm 0,31$ | 4,04<br>$\pm 0,35$ | 4,17<br>$\pm 0,39$ | 4,41<br>$\pm 0,36$ |
| 4        | 4,17<br>$\pm 0,27$ | 4,57<br>$\pm 0,39$ | 4,91<br>$\pm 0,33$ | 5,59<br>$\pm 0,29$ | 4,20<br>$\pm 0,35$ | 4,20<br>$\pm 0,28$   | 4,39<br>$\pm 0,32$ | 4,52<br>$\pm 0,32$ | 4,21<br>$\pm 0,37$ | 4,25<br>$\pm 0,41$ | 4,43<br>$\pm 0,40$      | 4,54<br>$\pm 0,43$ | 4,21<br>$\pm 0,37$ | 4,25<br>$\pm 0,41$ | 4,43<br>$\pm 0,40$ | 4,54<br>$\pm 0,43$ |
| 6        | 4,39<br>$\pm 0,41$ | 4,68<br>$\pm 0,36$ | 5,08<br>$\pm 0,36$ | 5,61<br>$\pm 0,35$ | 4,47<br>$\pm 0,32$ | 4,46<br>$\pm 0,25$   | 4,56<br>$\pm 0,24$ | 4,67<br>$\pm 0,33$ | 4,49<br>$\pm 0,28$ | 4,47<br>$\pm 0,27$ | 4,61<br>$\pm 0,26$      | 4,72<br>$\pm 0,27$ | 4,49<br>$\pm 0,28$ | 4,47<br>$\pm 0,27$ | 4,61<br>$\pm 0,26$ | 4,72<br>$\pm 0,27$ |
| 8        | 4,63<br>$\pm 0,39$ | 4,87<br>$\pm 0,37$ | 5,21<br>$\pm 0,37$ | 5,69<br>$\pm 0,30$ | 4,61<br>$\pm 0,47$ | 4,61<br>$\pm 0,42$   | 4,66<br>$\pm 0,35$ | 4,69<br>$\pm 0,35$ | 4,64<br>$\pm 0,41$ | 4,62<br>$\pm 0,32$ | 4,73<br>$\pm 0,32$      | 4,75<br>$\pm 0,26$ | 4,64<br>$\pm 0,41$ | 4,62<br>$\pm 0,32$ | 4,73<br>$\pm 0,32$ | 4,75<br>$\pm 0,26$ |
| 10       | 4,83<br>$\pm 0,48$ | 4,94<br>$\pm 0,42$ | 5,25<br>$\pm 0,38$ | 5,74<br>$\pm 0,31$ | 4,71<br>$\pm 0,45$ | 4,64<br>$\pm 0,40$   | 4,78<br>$\pm 0,37$ | 4,76<br>$\pm 0,36$ | 4,78<br>$\pm 0,43$ | 4,73<br>$\pm 0,39$ | 4,82<br>$\pm 0,30$      | 4,82<br>$\pm 0,33$ | 4,78<br>$\pm 0,43$ | 4,73<br>$\pm 0,39$ | 4,82<br>$\pm 0,30$ | 4,82<br>$\pm 0,33$ |
| 12       | 4,77<br>$\pm 0,58$ | 4,92<br>$\pm 0,41$ | 5,23<br>$\pm 0,44$ | 5,69<br>$\pm 0,43$ | 4,76<br>$\pm 0,38$ | 4,76<br>$\pm 0,38$   | 4,86<br>$\pm 0,38$ | 4,76<br>$\pm 0,33$ | 4,84<br>$\pm 0,37$ | 4,74<br>$\pm 0,52$ | 4,95<br>$\pm 0,37$      | 4,87<br>$\pm 0,31$ | 4,84<br>$\pm 0,37$ | 4,74<br>$\pm 0,52$ | 4,95<br>$\pm 0,37$ | 4,87<br>$\pm 0,31$ |
| 24       | 4,64<br>$\pm 0,77$ | 4,78<br>$\pm 0,67$ | 5,12<br>$\pm 0,44$ | 5,45<br>$\pm 0,25$ | 4,66<br>$\pm 0,64$ | 4,54<br>$\pm 0,60$   | 4,67<br>$\pm 0,57$ | 4,69<br>$\pm 0,60$ | 4,54<br>$\pm 0,77$ | 4,55<br>$\pm 0,71$ | 4,58<br>$\pm 0,76$      | 4,57<br>$\pm 0,75$ | 4,54<br>$\pm 0,77$ | 4,55<br>$\pm 0,71$ | 4,58<br>$\pm 0,76$ | 4,57<br>$\pm 0,75$ |

## Tabellenverzeichnis

|             |  |    |
|-------------|--|----|
| Tabelle 1:  | Prostaglandingehalte im Ejakulat des Mannes in $\mu\text{g/ml}$ .....  | 7  |
| Tabelle 2:  | Prostaglandingehalte im Ejakulat des Bullen in $\text{ng/ml}$ .....  | 8  |
| Tabelle 3:  | Prostaglandingehalte im Ejakulat ausgewählter Tierarten.....   | 9  |
| Tabelle 4:  | Klinische Studien zum Effekt systemischer Gaben von $\text{PGF}_{2\alpha}$ bei der Besamung.....   | 21 |
| Tabelle 5:  | Klinische Studien zum Effekt einer intrauterinen Applikation von $\text{PGF}_{2\alpha}$ bei der Besamung.....  | 25 |
| Tabelle 6:  | In vitro-Studien zum Effekt von $\text{PGF}_{2\alpha}$ auf die Motilität von Bullenspermien .....  | 30 |
| Tabelle 7:  | In vitro-Studien zum Effekt von Prostaglandinen auf die Motilität von Eberspermien gemessen mit einem CASA-System .....  | 33 |
| Tabelle 8:  | In vitro-Studien zum Effekt von Prostaglandinen auf die Motilität von Eberspermien ohne Verwendung eines CASA-Systems.....   | 35 |
| Tabelle 9:  | Produktionsdaten der verwendeten Bullenejakulate.....  | 37 |
| Tabelle 10: | Verwendete Prostaglandinpräparate .....  | 38 |
| Tabelle 11: | Einstellungen SpermVision 3.5® .....   | 41 |
| Tabelle 12: | Motilitätsparameter in SpermVision 3.5® .....  | 44 |
| Tabelle 13: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Vorwärtsbeweglichkeit (%) der Spermien dreier Bullen in drei verschiedenen Verdünnern nach unterschiedlicher Lagerzeit (h) bei $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ .....   | 57 |
| Tabelle 14: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichungen der Vorwärtsbeweglichkeit (%) der Spermien dreier Bullen in drei verschiedenen Verdünnern nach unterschiedlicher Lagerzeit (h) bei $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ .....  | 59 |
| Tabelle 15: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichungen der Vorwärtsbeweglichkeit (%) der Spermien dreier Bullen in drei verschiedenen Verdünnern nach unterschiedlicher Lagerzeit (h) bei $24\text{ }^{\circ}\text{C}$ .....   | 61 |
| Tabelle 16: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichungen der Vorwärtsbeweglichkeit (%) der Spermien der eingesetzten Bullen nach unterschiedlicher Lagerzeit (h) bei drei verschiedenen Lagertemperaturen ( $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ , $24\text{ }^{\circ}\text{C}$ , $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ )..... | 64 |

|             |   |     |
|-------------|---|-----|
| Tabelle 17: | Mittelwert und Standardabweichung des Anteils beweglicher Spermien (%) in Versuch 1 .....                         | 230 |
| Tabelle 18: | Mittelwert und Standardabweichung des Anteils vorwärtsbeweglicher Spermien (%) in Versuch 1 .....                 | 231 |
| Tabelle 19: | Mittelwert und Standardabweichung des tatsächlich zurückgelegten Weges ( $\mu\text{m}$ ) in Versuch 1 .....       | 232 |
| Tabelle 20: | Mittelwert und Standardabweichung der Länge einer geglätteten Linie ( $\mu\text{m}$ ) in Versuch 1 .....          | 233 |
| Tabelle 21: | Mittelwert und Standardabweichung der Strecke zwischen Start- und Endpunkt ( $\mu\text{m}$ ) in Versuch 1 .....   | 234 |
| Tabelle 22: | Mittelwert und Standardabweichung der Kurvilinearen Geschwindigkeit ( $\mu\text{m/s}$ ) in Versuch 1 .....        | 235 |
| Tabelle 23: | Mittelwert und Standardabweichung der Mittleren Geschwindigkeit ( $\mu\text{m/s}$ ) in Versuch 1 .....            | 236 |
| Tabelle 24: | Mittelwert und Standardabweichung der linearen Geschwindigkeit ( $\mu\text{m/s}$ ) in Versuch 1 .....             | 237 |
| Tabelle 25: | Mittelwert und Standardabweichung der Linearität in Versuch 1 .....   | 238 |
| Tabelle 26: | Mittelwert und Standardabweichung der Geradlinigkeit des durchschnittl. Bewegungsablaufes in Versuch 1 .....      | 239 |
| Tabelle 27: | Mittelwert und Standardabweichung der Auslenkung der Spermienbewegung in Versuch 1 .....                          | 240 |
| Tabelle 28: | Mittelwert und Standardabweichung der Frequenz der lateralen Kopfbewegungen (Hz) in Versuch 1 .....               | 241 |
| Tabelle 29: | Mittelwert und Standardabweichung der Amplitude der lateralen Kopfbewegungen ( $\mu\text{m}$ ) in Versuch 1 ..... | 242 |
| Tabelle 30: | Mittelwert und Standardabweichung des Anteils beweglicher Spermien (%) in Versuch 2 .....                         | 244 |
| Tabelle 31: | Mittelwert und Standardabweichung des Anteils vorwärtsbeweglicher Spermien (%) in Versuch 2 .....                 | 245 |
| Tabelle 32: | Mittelwert und Standardabweichung des tatsächlich zurückgelegten Weges ( $\mu\text{m}$ ) in Versuch 2 .....       | 246 |
| Tabelle 33: | Mittelwert und Standardabweichung der Länge einer geglätteten Linie ( $\mu\text{m}$ ) in Versuch 2 .....          | 247 |

|   |     |
|---|-----|
| Tabelle 34: Mittelwert und Standardabweichung der Strecke zwischen Start- und Endpunkt ( $\mu\text{m}$ ) in Versuch 2 .....   | 248 |
| Tabelle 35: Mittelwert und Standardabweichung der Kurvilinearen Geschwindigkeit ( $\mu\text{m/s}$ ) in Versuch 2.....         | 249 |
| Tabelle 36: Mittelwert und Standardabweichung der Mittleren Geschwindigkeit ( $\mu\text{m/s}$ ) in Versuch 2.....             | 250 |
| Tabelle 37: Mittelwert und Standardabweichung der Linearen Geschwindigkeit ( $\mu\text{m/s}$ ) in Versuch 2.....              | 251 |
| Tabelle 38: Mittelwert und Standardabweichung der Linearität in Versuch 2.....  | 252 |
| Tabelle 39: Mittelwert und Standardabweichung der Geradlinigkeit des durchschnittl. Bewegungsablaufes in Versuch 2 .....      | 253 |
| Tabelle 40: Mittelwert und Standardabweichung der Auslenkung der Spermienbewegung in Versuch 2.....                           | 254 |
| Tabelle 41: Mittelwert und Standardabweichung der Frequenz der lateralen Kopfbewegung (Hz) in Versuch 2 .....                 | 255 |
| Tabelle 42: Mittelwert und Standardabweichung der Amplitude der lateralen Kopfbewegungen ( $\mu\text{m}$ ) in Versuch 2 ..... | 256 |

## Abbildungsverzeichnis

|              |   |    |
|--------------|---|----|
| Abbildung 1: | Screenshot SpermVision 3.5® .....   | 42 |
| Abbildung 2: | Schematische Darstellung der Geschwindigkeitsparameter nach VERSTEGEN et al. (2002) .....   | 43 |
| Abbildung 3: | Schematische Darstellung des methodischen Vorgehens in Versuch 1 .....  | 51 |
| Abbildung 4: | Schematische Darstellung des methodischen Vorgehens in Versuch 2 .....  | 53 |
| Abbildung 5: | Verlauf der arithmetischen Mittelwerte mit Standardabweichung der Vorwärtsbeweglichkeit (%) der Spermien der eingesetzten Bullen (n = 4) über die Zeit (h) bei drei verschiedenen Lagertemperaturen (35 °C, 24 °C, 4 °C) .....  | 64 |
| Abbildung 6: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Anteile beweglicher Spermien (%) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei n = 9 Messwiederholungen) .....  | 66 |
| Abbildung 7: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Anteile beweglicher Spermien (%) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei n = 9 Messwiederholungen) .....                                     | 67 |
| Abbildung 8: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Anteile beweglicher Spermien (%) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei n = 9 Messwiederholungen) .....                                  | 68 |
| Abbildung 9: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Anteile vorwärtsbeweglicher Spermien an der Gesamtzahl beweglicher Spermien (%) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei n = 9 Messwiederholungen) ..... | 70 |



- Abbildung 10: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Anteile vorwärtsbeweglicher Spermien an der Gesamtzahl beweglicher Spermien (%) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen) .....71
- Abbildung 11: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Anteile vorwärtsbeweglicher Spermien an der Gesamtzahl beweglicher Spermien (%) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen) .....72
- Abbildung 12: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Länge des tatsächlich zurückgelegten Weges ( $\mu\text{m}$ ) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen) .....74
- Abbildung 13: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Länge des tatsächlich zurückgelegten Weges ( $\mu\text{m}$ ) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen) .....75
- Abbildung 14: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Länge des tatsächlich zurückgelegten Weges ( $\mu\text{m}$ ) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen) .....76
- Abbildung 15: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Länge einer geglätteten Linie ( $\mu\text{m}$ ) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen) .....78
- Abbildung 16: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Länge einer geglätteten Linie ( $\mu\text{m}$ ) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel

---

|               |  |    |
|---------------|--|----|
|               | sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei n = 9 Messwiederholungen) .....   | 79 |
| Abbildung 17: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Länge einer geglätteten Linie ( $\mu\text{m}$ ) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei n = 9 Messwiederholungen) .....                  | 80 |
| Abbildung 18: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Länge der Strecke zwischen Start- und Endpunkt ( $\mu\text{m}$ ) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei n = 9 Messwiederholungen) .....               | 82 |
| Abbildung 19: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Länge der Strecke zwischen Start- und Endpunkt ( $\mu\text{m}$ ) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei n = 9 Messwiederholungen) .....    | 83 |
| Abbildung 20: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Länge der Strecke zwischen Start- und Endpunkt ( $\mu\text{m}$ ) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei n = 9 Messwiederholungen) ..... | 84 |
| Abbildung 21: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Kurvilinearen Geschwindigkeiten ( $\mu\text{m/s}$ ) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei n = 9 Messwiederholungen) .....                            | 86 |
| Abbildung 22: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Kurvilinearen Geschwindigkeiten ( $\mu\text{m/s}$ ) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei n = 9 Messwiederholungen) .....                 | 87 |

- Abbildung 23: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Kurvilinearen Geschwindigkeiten ( $\mu\text{m/s}$ ) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen) .....88
- Abbildung 24: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Mittleren Geschwindigkeiten ( $\mu\text{m/s}$ ) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen) .....90
- Abbildung 25: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Mittleren Geschwindigkeiten ( $\mu\text{m/s}$ ) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen) .....91
- Abbildung 26: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Mittleren Geschwindigkeiten ( $\mu\text{m/s}$ ) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen) .....92
- Abbildung 27: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Linearen Geschwindigkeiten ( $\mu\text{m/s}$ ) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen) .....94
- Abbildung 28: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Linearen Geschwindigkeiten ( $\mu\text{m/s}$ ) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen) .....95
- Abbildung 29: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Linearen Geschwindigkeiten ( $\mu\text{m/s}$ ) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen

---

|               |   |     |
|---------------|---|-----|
|               | Cloprostenol-Enantiomer zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei n = 9 Messwiederholungen) .....   | 96  |
| Abbildung 30: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Linearität der Spermienbewegung in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei n = 9 Messwiederholungen) .....                                     | 98  |
| Abbildung 31: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Linearität der Spermienbewegung in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei n = 9 Messwiederholungen) .....                          | 99  |
| Abbildung 32: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Linearität der Spermienbewegung in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei n = 9 Messwiederholungen) .....                       | 100 |
| Abbildung 33: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Geradlinigkeit des durchschnittlichen Bewegungsablaufes in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei n = 9 Messwiederholungen) ...               | 102 |
| Abbildung 34: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Geradlinigkeit des durchschnittlichen Bewegungsablaufes in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei n = 9 Messwiederholungen) ...    | 103 |
| Abbildung 35: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Geradlinigkeit des durchschnittlichen Bewegungsablaufes in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei n = 9 Messwiederholungen) ... | 104 |
| Abbildung 36: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Auslenkung der Spermienbewegung in den Kontrollen mit und ohne   |     |

---

|               |  |     |
|---------------|--|-----|
|               | Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei n = 9 Messwiederholungen) .....  | 106 |
| Abbildung 37: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Auslenkung der Spermienbewegung in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei n = 9 Messwiederholungen) .....               | 107 |
| Abbildung 38: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Auslenkung der Spermienbewegung in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei n = 9 Messwiederholungen) .....            | 108 |
| Abbildung 39: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Frequenz der lateralen Kopfbewegungen (Hz) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei n = 9 Messwiederholungen) .....               | 110 |
| Abbildung 40: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Frequenz der lateralen Kopfbewegungen (Hz) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei n = 9 Messwiederholungen) .....    | 111 |
| Abbildung 41: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Frequenz der lateralen Kopfbewegungen (Hz) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei n = 9 Messwiederholungen) ..... | 112 |
| Abbildung 42: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Amplitude der lateralen Kopfbewegungen ( $\mu\text{m}$ ) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei n = 9 Messwiederholungen) ..... | 114 |

- Abbildung 43: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Amplitude der lateralen Kopfbewegungen ( $\mu\text{m}$ ) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen) ..... 115
- Abbildung 44: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Amplitude der lateralen Kopfbewegungen ( $\mu\text{m}$ ) in den Kontrollen mit und ohne Lösungsmittel sowie nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 1 (bei  $n = 9$  Messwiederholungen) ..... 116
- Abbildung 45: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Anteile beweglicher Spermien (%) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei  $n = 30$  Messwiederholungen) ..... 118
- Abbildung 46: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Anteile beweglicher Spermien (%) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei  $n = 30$  Messwiederholungen) ..... 119
- Abbildung 47: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Anteile beweglicher Spermien (%) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei  $n = 30$  Messwiederholungen) ..... 121
- Abbildung 48: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Anteile vorwärtsbeweglicher Spermien (%) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei  $n = 30$  Messwiederholungen) ..... 123
- Abbildung 49: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Anteile vorwärtsbeweglicher Spermien (%) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol - Racemat und der dazugehörigen

---

|               |  |     |
|---------------|--|-----|
|               | Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei n = 30 Messwiederholungen) .....   | 124 |
| Abbildung 50: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Anteile vorwärtsbeweglicher Spermien (%) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol - Enantiomer und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei n = 30 Messwiederholungen) .....         | 126 |
| Abbildung 51: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung des Tatsächlich zurückgelegten Weges ( $\mu\text{m}$ ) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei n = 30 Messwiederholungen) .....               | 128 |
| Abbildung 52: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung des Tatsächlich zurückgelegten Weges ( $\mu\text{m}$ ) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei n = 30 Messwiederholungen) .....    | 129 |
| Abbildung 53: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung des Tatsächlich zurückgelegten Weges ( $\mu\text{m}$ ) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei n = 30 Messwiederholungen) ..... | 130 |
| Abbildung 54: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Länge einer geglätteten Linie ( $\mu\text{m}$ ) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei n = 30 Messwiederholungen) .                      | 132 |
| Abbildung 55: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Länge einer geglätteten Linie ( $\mu\text{m}$ ) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei n = 30 Messwiederholungen) .           | 133 |
| Abbildung 56: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Länge einer geglätteten Linie ( $\mu\text{m}$ ) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer und der dazugehörigen Kontrolle zu den  |     |

---

|               |  |     |
|---------------|--|-----|
|               | acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei n = 30 Messwiederholungen)<br>.....   | 135 |
| Abbildung 57: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Strecke zwischen Start- und Endpunkt ( $\mu\text{m}$ ) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei n = 30 Messwiederholungen)<br>.....            | 137 |
| Abbildung 58: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Strecke zwischen Start- und Endpunkt ( $\mu\text{m}$ ) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei n = 30 Messwiederholungen) .....    | 138 |
| Abbildung 59: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Strecke zwischen Start- und Endpunkt ( $\mu\text{m}$ ) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei n = 30 Messwiederholungen) ..... | 140 |
| Abbildung 60: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Kurvilinearen Geschwindigkeit ( $\mu\text{m/s}$ ) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei n = 30 Messwiederholungen)<br>.....                 | 142 |
| Abbildung 61: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Kurvilinearen Geschwindigkeit ( $\mu\text{m/s}$ ) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei n = 30 Messwiederholungen) .....         | 143 |
| Abbildung 62: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Kurvilinearen Geschwindigkeit ( $\mu\text{m/s}$ ) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei n = 30 Messwiederholungen) .....      | 145 |
| Abbildung 63: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Mittleren Geschwindigkeit ( $\mu\text{m/s}$ ) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen   |     |



|               |   |     |
|---------------|---|-----|
|               | Dinoprost und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei n = 30 Messwiederholungen) .  | 147 |
| Abbildung 64: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Mittleren Geschwindigkeit ( $\mu\text{m/s}$ ) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei n = 30 Messwiederholungen) .        | 148 |
| Abbildung 65: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Mittleren Geschwindigkeit ( $\mu\text{m/s}$ ) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei n = 30 Messwiederholungen) ..... | 149 |
| Abbildung 66: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Linearen Geschwindigkeit ( $\mu\text{m/s}$ ) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei n = 30 Messwiederholungen) .                    | 151 |
| Abbildung 67: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Linearen Geschwindigkeit ( $\mu\text{m/s}$ ) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei n = 30 Messwiederholungen) .         | 152 |
| Abbildung 68: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Linearen Geschwindigkeit ( $\mu\text{m/s}$ ) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei n = 30 Messwiederholungen) .....  | 154 |
| Abbildung 69: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Linearität der Spermienbewegung nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei n = 30 Messwiederholungen) .                                 | 156 |
| Abbildung 70: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Linearität der Spermienbewegung nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei n = 30 Messwiederholungen) .                      | 157 |
| Abbildung 71: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Linearität der Spermienbewegung nach Zugabe verschiedener Konzentrationen  |     |

---

|               |   |     |
|---------------|---|-----|
|               | Cloprostenol-Enantiomer und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei n = 30 Messwiederholungen) .....  | 159 |
| Abbildung 72: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Geradlinigkeit des durchschnittlichen Bewegungsablaufes nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei n = 30 Messwiederholungen) .....               | 161 |
| Abbildung 73: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Geradlinigkeit des durchschnittlichen Bewegungsablaufes nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei n = 30 Messwiederholungen) .....    | 162 |
| Abbildung 74: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Geradlinigkeit des durchschnittlichen Bewegungsablaufes nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei n = 30 Messwiederholungen) ..... | 164 |
| Abbildung 75: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Auslenkung der Spermienbewegung nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei n = 30 Messwiederholungen) .....                                       | 166 |
| Abbildung 76: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Auslenkung der Spermienbewegung nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei n = 30 Messwiederholungen) .....                            | 167 |
| Abbildung 77: | Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Auslenkung der Spermienbewegung nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei n = 30 Messwiederholungen) .....                         | 168 |

---

|  |     |
|--|-----|
| Abbildung 78: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Frequenz der lateralen Kopfbewegungen (Hz) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei n = 30 Messwiederholungen) .....                             | 170 |
| Abbildung 79: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Frequenz der lateralen Kopfbewegungen (Hz) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei n = 30 Messwiederholungen) .....                  | 171 |
| Abbildung 80: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Frequenz der lateralen Kopfbewegungen (Hz) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei n = 30 Messwiederholungen) .....               | 173 |
| Abbildung 81: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Amplitude der lateralen Kopfbewegungen ( $\mu\text{m}$ ) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Dinoprost und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei n = 30 Messwiederholungen) .....               | 175 |
| Abbildung 82: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Amplitude der lateralen Kopfbewegungen ( $\mu\text{m}$ ) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Racemat und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei n = 30 Messwiederholungen) .....    | 176 |
| Abbildung 83: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Amplitude der lateralen Kopfbewegungen ( $\mu\text{m}$ ) nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Cloprostenol-Enantiomer und der dazugehörigen Kontrolle zu den acht Messzeitpunkten in Versuch 2 (bei n = 30 Messwiederholungen) ..... | 178 |

## Danksagung

Herrn Prof. Dr. Axel Wehrend danke ich für die Überlassung des interessanten und praxisorientierten Themas. Die stetige Motivation und die zeitlich flexible Betreuung waren eine große Hilfe bei der Anfertigung der Doktorarbeit.

Meinen ehemaligen Kollegen der Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere mit tierärztlicher Ambulanz gebührt ein herzliches Dankeschön für die gute Zusammenarbeit. Ich werde immer gerne an diese schöne Zeit zurückdenken.

Bei der Herstellung der Einzelproben für meine unzähligen Motilitätsanalysen konnte ich mich stets auf die Unterstützung von Simone, Franzi und Julia verlassen. Vielen Dank dafür!

Für die statistischen Auswertungen und viele geduldige Erklärungen bedanke ich mich bei Herrn Dr. Failing und Frau Sparenberg von der Arbeitsgruppe Biomathematik und Datenverarbeitung.

Der Zucht- und Besamungsunion Hessen eG danke ich für die Überlassung der Besamungsportionen, der Firma Veyx-Pharma GmbH für die Bereitstellung des Lösungsmittels.

Meiner Familie und meinen Freunden: VIELEN DANK für jegliche Unterstützung! Ich freue mich sehr, dass ich die Dissertation neben Job und Familie erfolgreich abschließen konnte. Danke für Besuche, Ablenkung, Ratschläge, Korrekturen, Übersetzungen, Babysitten und alle sonstigen Hilfestellungen.

Meine herzallerliebste Sara, dir habe ich es letztendlich zu verdanken, dass ich diese Arbeit fertig gemacht habe. Danke für ALLES. Ich freue mich auf all die kommenden Abenteuer mit dir und unseren Kindern!

Ich erkläre:

Ich habe die vorgelegte Dissertation selbstständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.

Jörg Oliver Willig



*édition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**



VVB LAUFERSWEILER VERLAG  
STAUFENBERGRING 15  
D-35396 GIESSEN

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890  
redaktion@doktorverlag.de  
www.doktorverlag.de

ISBN: 978-3-8359-6381-8



9 17 8 3 8 3 5 19 6 3 8 1 8