

**Anna-Lena Vogel**

Biochemische Untersuchungen an Seminalplasma von  
Rüden unter Berücksichtigung der Fertilitätsparameter



**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.**

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

1. Auflage 2012

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 Author or the Publishers.

1<sup>st</sup> Edition 2012

© 2012 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. Axel Wehrend

# **Biochemische Untersuchungen an Seminalplasma von Rüden unter Berücksichtigung der Fertilitätsparameter**

## **INAUGURAL-DISSERTATION**

zur Erlangung des Grades eines

Dr. med. vet.

beim Fachbereich Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

eingereicht von

**Anna-Lena Vogel**

Tierärztin aus Bad Arolsen (Hessen)

Gießen 2012

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

Gutachter: Prof. Dr. Axel Wehrend

Prof. Dr. Andreas Moritz

Tag der Disputation: 13.08.2012

**Meinen Großeltern  
Karl und Hiltrud Schmidt  
als Dank und zur Freude**

**Inhaltsverzeichnis**

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG.....</b>	<b>4</b>
<b>2</b>	<b>LITERATURÜBERSICHT .....</b>	<b>5</b>
<b>2.1</b>	<b>DEFINITION SEMINALPLASMA.....</b>	<b>5</b>
<b>2.2</b>	<b>ZUSAMMENSETZUNG DES SEMINALPLASMA .....</b>	<b>8</b>
2.2.1	MENGEN- UND SPURENELEMENTE.....	8
2.2.2	MENGENELEMENTE .....	8
2.2.3	SPURENELEMENTE.....	9
2.2.4	ENZYMAKTIVITÄTEN.....	13
2.2.4.1	ALKALISCHE PHOSPHATASE (AP).....	13
2.2.4.2	ASPARTAT-AMINOTRANSFERASE (AST).....	15
2.2.4.3	LAKTAT-DEHYDROGENASE (LDH) .....	15
2.2.4.4	GAMMA-GLUTAMYLTRANSFERASE (GGT) .....	16
2.2.4.5	SAURE PHOSPHATASE (SP), NICHT-PROSTATASPEZIFISCHE SAURE PHOSPHATASE (NSP) .....	16
<b>2.3</b>	<b>ZUSAMMENSETZUNG DES SEMINALPLASMAS BEIM RÜDEN .....</b>	<b>16</b>
<b>2.4</b>	<b>EJAKULATGEWINNUNG BEIM RÜDEN .....</b>	<b>18</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN.....</b>	<b>21</b>
<b>3.1</b>	<b>PROBENENTNAHME.....</b>	<b>25</b>
3.1.1	VORVERSUCH.....	27
<b>3.2</b>	<b>BESTIMMUNGSMETHODEN .....</b>	<b>28</b>
3.2.1	ELEKTROLYTKONZENTRATIONSBESTIMMUNG .....	28
3.2.2	ENZYME.....	30
3.2.3	STATISTISCHE AUSWERTUNG.....	31
<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE.....</b>	<b>33</b>
<b>4.1</b>	<b>VORVERSUCH.....</b>	<b>33</b>
4.1.1	FRAKTION 1.....	33
4.1.1.1	ALKALISCHE PHOSPHATASE.....	33
4.1.1.2	ASPARTAT-AMINO-TRANSFERASE .....	34
4.1.1.3	GAMMA-GLUTAMYL-TRANSFERASE .....	36
4.1.1.4	LAKTATDEHYDROGENASE .....	37
4.1.1.5	SAURE PHOSPHATASE .....	39

4.1.1.6 NICHT-PROSTATASPEZIFISCHE SAURE PHOSPHATASE .....	40
4.1.2 FRAKTION 2.....	42
4.1.2.1 ALKALISCHE PHOSPHATASE.....	42
4.1.2.2 ASPARTAT-AMINO-TRANSFERASE .....	43
4.1.2.3 GAMMA-GLUTAMYL-TRANSFERASE .....	45
4.1.2.4 LAKTATDEHYDROGENASE .....	46
4.1.2.5 SAURE PHOSPHATASE .....	48
4.1.2.6 NICHT-PROSTATASPEZIFISCHE SAURE PHOSPHATASE .....	49
4.1.3 FRAKTION 3.....	51
4.1.3.1 ALKALISCHE PHOSPHATASE.....	51
4.1.3.2 ASPARTAT-AMINO-TRANSFERASE .....	52
4.1.3.3 GAMMA-GLUTAMYL-TRANSFERASE .....	54
4.1.3.4 LAKTATDEHYDROGENASE .....	55
4.1.3.5 SAURE PHOSPHATASE .....	57
4.1.3.6 NICHT-PROSTATASPEZIFISCHE SAURE PHOSPHATASE .....	58
<b>4.2 HAUPTVERSUCH .....</b>	<b>60</b>
4.2.1 FRAKTION 1.....	60
4.2.1.1 ENZYME.....	60
4.2.1.2 MENGEN- UND SPURENELEMENTE.....	65
4.2.2 FRAKTION 2.....	71
4.2.2.1 ENZYME.....	71
4.2.2.2 MENGEN- UND SPURENELEMENTE.....	76
4.2.3 FRAKTION 3.....	81
4.2.3.1 ENZYME.....	81
<b>5 DISKUSSION .....</b>	<b>93</b>
<b>5.1 DISKUSSION DER FRAGESTELLUNG .....</b>	<b>93</b>
<b>5.2 DISKUSSION DER METHODE.....</b>	<b>94</b>
<b>5.3 DISKUSSION DER ERGEBNISSE .....</b>	<b>96</b>
5.3.1 VORVERSUCH.....	96
5.3.2 HAUPTVERSUCH .....	97
5.3.2.1 ENZYMAKTIVITÄTEN.....	97
5.3.2.2 KONZENTRATIONEN VON MENGEN- UND SPURENELEMENTEN .....	101
<b>5.4 SCHLUSSBETRACHTUNG .....</b>	<b>109</b>

<b>6</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	<b>110</b>
<b>7</b>	<b>SUMMARY</b> .....	<b>113</b>
<b>8</b>	<b>ANHANG</b> .....	<b>116</b>
<b>8.1</b>	<b>ERGEBNISSE HAUPTVERSUCH</b> .....	<b>116</b>
8.1.1	ERGEBNISSE DER ENZYMAKTIVITÄTEN .....	116
8.1.2	ERGEBNISSE DER KONZENTRATIONEN DER MENGENELEMENTE .....	134
8.1.3	ERGEBNISSE DER KONZENTRATIONEN DER SPURENELEMENTE .....	146
<b>9</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b> .....	<b>152</b>



## 1 Einleitung

Die Befruchtungsfähigkeit von Spermatozoen hängt neben dem Aufbau der einzelnen Samen und deren Stoffwechsel vom umliegenden Mikromilieu ab. Dieses wird im Rahmen der Ejakulation und dem kaudalen Abschnitt des weiblichen Genitaltraktes vom Seminalplasma bestimmt. Vorausgehende Forschungsarbeiten belegen, dass die Zusammensetzung des Seminalplasmas Einfluss auf die Befruchtungsfähigkeit und die Spermafunktion hat. Allerdings beziehen sich diese Studien hauptsächlich auf Hengst, Eber, Bulle und Mensch.

In der Literatur gibt es einzelne Informationen über die biochemische Zusammensetzung des caninen Seminalplasmas (PESCH et al. 2007, JOHNSTON 1991, QUINN und WHITE 1967, BERNSTEIN 1933, SCHÄFER-SOMI et al. 2011 und 2012, DE SOUZA et al. 2006). Diese umfassen jedoch nur wenige ausgewählte Parameter. Umfassende Studien über die Enzymaktivitäten und Konzentrationen an Mengen- und Spurenelementen im caninen Seminalplasma bei Patho- oder Normospermie sind nicht bekannt.

So war es Ziel dieser Studie folgende Fragen zu beantworten:

- Wie ist die mittlere Aktivität der verschiedenen Enzyme und Konzentrationen der Mengen- und Spurenelemente im Seminalplasma?
- Gibt es signifikante Unterschiede in Ejakulaten, die eine Normo- und Pathospermie aufweisen?

Da die Gewinnung der Proben über einen längeren Zeitraum erfolgte, wurde das zu untersuchende Seminalplasma der Probanden tiefgefroren gelagert.

Um Fehler auszuschließen, die auf das Tiefgefrieren zurückgehen könnten, wurde in einem Vorversuch überprüft, ob sich die Enzymaktivität im Seminalplasma durch das Tiefgefrieren und die Lagerung der Probe bei -20°C verändert.

## 2 Literaturübersicht

### 2.1 Definition Seminalplasma

Das Seminalplasma wird als flüssiger und spermienfreier Teil des Ejakulates definiert. Daneben sind Zellen und Zellenpartikel enthalten. Die Aussonderung einer jeden Drüse und das Seminalplasma in seiner Gesamtheit werden unkontrolliert während der Ejakulation abgegeben (PETZOLDT 2001). Es beinhaltet Proteine, Enzyme, Lipide und Elektrolyte, die eine wichtige Funktion für den Spermienstoffwechsel haben (MARCO-JIMÉNEZ et al. 2008). Abnormitäten in der biochemischen Zusammensetzung des Seminalplasmas können Ursachen der männlichen Infertilität sein (COMHAIRE et al. 1987).

Das Seminalplasma geht nur eine zeitlich und stofflich begrenzte Interaktion mit den Spermienzellen ein. Im weiblichen Genitaltrakt tritt es mit weiteren Sekreten in Wechselwirkung (PETZOLDT 2001). Je nach Tierart macht es circa 75 - 85 % des Ejakulatvolumens aus. Mit einem prozentualen Anteil von circa 75 % ist Wasser ein Hauptbestandteil. Der durchschnittliche pH-Wert liegt mit 7,3 im schwach alkalischen Bereich.

Das Seminalplasma wird von den akzessorischen Geschlechtsdrüsen gebildet, deren sekretorische Leistung hauptsächlich durch das Testosteron gesteuert wird. Ferner handelt es sich um Sekrete des Hodens, des Nebenhodens, des Samenleiters und der kleinen Harnröhrendrüsen. Der Aufbau der akzessorischen Geschlechtsdrüsen sowie die biochemische Zusammensetzung des Seminalplasmas variiert zwischen den Haussäugetierarten (MANN und LUTWAK-MANN 1981).

Zu den akzessorischen Geschlechtsdrüsen zählen die paarig angelegte Samenblasendrüse (*Glandula vesicularis*), die Samenleiterampulle (*Ampulla ductus deferentis*), die paarig vorkommende Harnröhrenzweibeldrüse (*Glandula bulbourethralis*) und die unpaare Prostata (*Glandula prostatica*). Die Geschlechtsdrüsen liegen entlang des Beckenstückes der Harnröhre, und entsprechend der speziesspezifischen Ausprägung variiert die Zusammensetzung des Seminalplasmas. In Tabelle 1 sind die Volumina des akzessorischen Sekretes der einzelnen Tierarten angegeben.

Die Prostata oder Vorsteherdrüse ist bei allen Haussäugetieren vorhanden. Beim Rüden ist sie die einzige akzessorische Geschlechtsdrüse (GASSE 2004) und folglich Hauptbildungsort des Seminalplasmas.

Sie besteht aus einem *Corpus prostaticae* (*Pars externa*) und einer *Pars disseminata* (*Pars interna*) (GASSE 2004, LIEBICH et al. 2010, DELLMANN und WROBEL 1987). Das *Corpus prostaticae*, das den kompakten Hauptteil der Drüse darstellt, liegt dem Beckenstück der Harnröhre außen auf. Die *Pars disseminata* ist mit ihren Drüsenläppchen in die Wand der Harnröhre integriert (GASSE 2004).

Die Vorsteherdrüse sezerniert ein dünnflüssiges, farbloses und schwach saures Sekret, welches Enzyme und Zinkionen enthält. Während der Ejakulation wird das Prostatasekret den Spermien beigemischt (LIEBICH et al. 2010).

Die Samenleiterampulle ist beim Pferd, Wiederkäuer und Hund als spindelförmige Auftreibung des Endstücks des *Ductus deferens* makroskopisch erkennbar. Bei anderen Haussäugetieren ist sie histologisch nachweisbar. Beim Hengst ist sie als spindelförmige Anschwellung im Endabschnitt des Samenleiters besonders stark ausgebildet (GASSE 2004).

Die Samenblasendrüse kommt, außer bei Hund und Katze, bei allen Haussäugetieren vor (GASSE 2004) und sezerniert einen großen Teil des tierartspezifisch zusammengesetzten Seminalplasmas. Sie liegt als paariges Organ seitlich am Harnblasenhals und flankiert lateral die Samenleiterampulle. Beim Pferd besitzt sie eine blasenförmige Form (*Vesicula seminalis*). Beim Wiederkäuer und Schwein erscheint sie hingegen als höckerige Drüse (GASSE 2004). Das von den Samenblasendrüsen sezernierte Sekret enthält Fruktose, was bedeutsam für den Energiestoffwechsel der Spermien ist (LIEBICH et al. 2010).

Die Harnröhrenzwiebeldrüse liegt der Harnröhre kurz vor ihrem Austritt aus der Beckenhöhle dorsolateral auf und ist dem *Bulbus penis* dicht benachbart (GASSE 2004). Sie fehlt dem Rüden und ist besonders stark beim Eber ausgebildet. Die Harnröhrenzwiebeldrüse bildet ein muköses, fadenziehendes Sekret. Diese Aussonderung wirkt als Vorsekret, zur Neutralisation des Harnröhrenmucus und der Benetzung der Vagina (LIEBICH et al. 2010).

Tabelle 1: Volumina des Seminalplasmas zusammengestellt nach PETZOLDT (2001)

Spezies	Volumen (ml) (Variationsbreite)	Mittleres Volumen (ml)	Herkunft der Hauptfraktionen
Rind	2 - 10	4	Samenleiterampulle
			Samenblasendrüsen
Pferd	30 - 300	70	Samenleiterampullen
			Samenblasendrüsen
Schwein	150 - 300	250	Samenblasendrüsen
			Prostata
			Bulbourethraldrüsen
Schaf	0,7 - 2	1	Samenblasendrüsen
Ziege	0,2 - 2,5	1	Samenblasendrüsen
Hund	2 - 15	9	Prostata

Das Seminalplasma hat verschiedene Funktionen und Aufgaben:

- Ernährung der Spermien im weiblichen Genitaltrakt (WABERSKI 2007)
- Neutralisierender Puffer zum Schutz der Spermien vor schädigenden Stoffwechselprodukten
- Transport der Spermien während der Ejakulation im männlichen Reproduktionstrakt und Weitertransport im weiblichen Genitaltrakt
- Bedeutung bei der Immunsuppression während der Befruchtung und bei der Kapazitation (PESCH 2005)
- Aktivierung von unbeweglichen Spermien (ELZANATY et al. 2002)
- Bakterizide Wirkung
- Spermien- und Epithelschutzfunktion mittels Proteinase-Inhibitor (POLAKOSKI und KOPTA 1982)
- Erhöhung der Myometriumsperistaltik (MALTARIS et al. 2006)

## 2.2 Zusammensetzung des Seminalplasma

### 2.2.1 Mengen- und Spurenelemente

Mineralstoffe haben vielfältige Funktionen im Körper. Sie sind Bestandteile zahlreicher organischer Verbindungen zum Beispiel Vitamine, Hormone oder Enzyme. Des Weiteren sind sie wichtig zur Aufrechterhaltung des osmotischen Druckes und dienen als Katalysatoren bei enzymatischen Reaktionen. Die Funktion des Spermas ist im hohen Maße abhängig vom Ionenmilieu (HAMAMAH und GATTI 1998). Bestimmte Formen der männlichen Infertilität können mit einer abnorm veränderten Ionenkonzentration im Seminalplasma korrelieren (CHIA et al. 2000, PANDY et al. 1983, STANWELL-SMITH et al. 1983).

In Tabelle 2 sind die ionischen Bestandteile des Seminalplasmas und deren molare Konzentration bei ausgewählten Spezies angegeben.

### 2.2.2 Mengenelemente

Die Mengenelemente Natrium ( $\text{Na}^+$ ) und Kalium ( $\text{K}^+$ ) werden in der Literatur meist gemeinsam beschrieben. Generell ist die Konzentration des Natriums im Seminalplasma höher als die des Kaliums. In der Zelle sind die Gehalte von Natrium im Gegensatz zum Seminalplasma geringer, weshalb sich darauf schließen lässt, dass ein aktiver Transportmechanismus besteht (PESCH 2005).

Beiden Kationen werden wichtige Funktionen hinsichtlich des osmotischen Drucks zugeschrieben (VERMA et al. 2009).

Calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) bindet Proteine der Spermaplasma-membran sowie Proteine im Seminalplasma (AURICH et al. 1996). Hohe Calciumkonzentration sind in der spermienreichen Fraktion enthalten (KARESKOSKI und KATILA 2008).

Verglichen mit anderen Haussäugetieren ist die Calciumkonzentration aus noch nicht beschriebenen Gründen im equinen Seminalplasma am höchsten. Zudem konnte PESCH (2005) zwischen dem Calciumgehalt und dem Ejakulatvolumen eine positive Korrelation feststellen. Dies lässt vermuten, dass die Calciumionen hauptsächlich über die akzessorischen Geschlechtsdrüsen ins Seminalplasma gelangen. DE SOUZA et al. (2006) verglichen in einer Studie die Konzentrationen von Natrium, Kalium und Calcium im caninen Seminalplasma vor und nach einer Vasektomie. Dabei gab es hinsichtlich der Konzentrationen keine signifikanten Unterschiede,

woraus sich schließen lässt, dass die genannten Mengenelemente der Prostata entstammen. Studien aus der Humanmedizin (ABOU-SHAKRA et al. 1989, WONG et al. 2001) konnten belegen, dass abnorme Calciumkonzentrationen zu Beeinträchtigungen der Spermatogenese führen, was insbesondere die Produktion, Maturation, Motilität und die Befruchtungsfähigkeit der Spermien betrifft.

Die Konzentration von Magnesium ( $Mg^{2+}$ ) im Seminalplasma ist deutlich höher als die Konzentration im Blutserum (PESCH 2005). Des Weiteren ist das Mengenelement an biologischen Prozessen, Enzymreaktionen und der Ejakulation beteiligt (OMU et al. 2001). Drastische Erniedrigungen der Magnesiumkonzentrationen können sich beim Mann in Fruchtbarkeitsstörungen äußern (EDORH et al. 2003).

Die Rolle des Phosphats (P) im Seminalplasma ist weitgehend ungeklärt. Die Höchstkonzentration wird in der spermienreichen Fraktion beschrieben (KARESKOSKI und KATILA 2008).

### 2.2.3 Spurenelemente

BERTRAND und VLADESCO (1921) berichten erstmalig über die Präsenz von Zink ( $Zn^{2+}$ ) im Ejakulat. Dem Spurenelement werden bedeutende Funktionen zugeschrieben. Es ist beteiligt am Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsel und an der Immunfunktion (BIRES et al. 1997). FARRELL und LYMAN (1937) berichten über die antibakterielle Wirkung des Spurenelements im humanen Seminalplasma.

Zudem weist es eine unabdingbare Bedeutung für die Fertilität auf. Ein Zinkmangel kann zu einer Störung der testikulären Entwicklung und zu einer gestörten Spermatogenese führen (CIGANKOVA et al. 1994 und 1998). Zudem sinken der Testosterongehalt im Blut sowie der Androgengehalt im Hoden (LEONHARD-MAREK 2001). Des Weiteren kann eine Oligo-, Astheno- und Teratozoospermie eintreten.

Zink ist bedeutsam für die Bildung von Enzymkomplexen. Insgesamt ist das Spurenelement an der Funktion von über 300 Enzymen beteiligt (COLEMAN 1998). Darüber hinaus ist Zink an der Speicherung, Produktion und Sekretion von verschiedenen Hormonen beteiligt und dient als Stabilisator von biologischen Membranen.

Das Element ist gemeinsam mit anderen Stoffen, Enzymen und dem sekretorischen Immunglobulin A für die bakterizide Wirkung des Seminalplasmas verantwortlich.

Die Zinkkonzentration im Seminalplasma sowie in der Prostata und in reifen Spermien ist generell höher als in anderen Organen.

Zinkionen im Seminalplasma verhindern eine frühzeitige Induktion der Akrosomreaktion, da der Influx von ionisiertem Calcium blockiert wird. Zudem ist Zink verantwortlich für die Verbindung zwischen Kopf und Schwanz der Spermien (LEONHARD- MAREK 2001). Der physiologische Zinkgehalt sinkt nach Penetration der Oozyte, woraufhin die Schwanzablösung veranlasst wird (LEONHARD-MAREK 2001). Des Weiteren beschreibt LEONHARD-MAREK (2001), dass Zink während der Wanderung der Spermien den Verbrauch von Energiereserven kontrolliert und limitiert.

Untersuchungen zum Zinkgehalt im humanen Ejakulat wurden von BEHNE et al. (1988) durchgeführt. Es konnten keine Korrelationen zu Spermaqualitätsparametern (Motilität, Geschwindigkeit, Vitalität) hergestellt werden. Die Arbeitsgruppe HENKEL et al. (1999) konnte jedoch eine negative Korrelation zur Motilität und zur Geschwindigkeit der Spermien verzeichnen. Des Weiteren ergab sich eine positive Korrelation zum Prozentsatz der morphologisch veränderten Spermien.

Die Gehalte von Zink im Blut und im Seminalplasma bei fertilen und infertilen Männern wurde von der Arbeitsgruppe CHIA et al. (2000) verglichen. Dabei stellte sich heraus, dass die Zinkkonzentration im Blut in beiden Gruppen konstant bleibt. Im Seminalplasma hingegen wurde bei den unfruchtbaren Probanden eine deutlich niedrigere Zinkkonzentration ermittelt. Eine positive Korrelation ergab sich zwischen den Werten im Seminalplasma zu der Vitalität, der Motilität und der Dichte der Spermien.

Im equinen Seminalplasma konnten PESCH et al. (2006) feststellen, dass die Zinkgehalte negativ mit den Volumina und positiv mit den Dichten der Ejakulate korrelieren.

Eisen ( $\text{Fe}^{2+}$ ) kommt im Seminalplasma und im Organismus, als Transferrin (Transportform), Ferritin (Depoteisen) sowie in freier Form vor. Der Hauptanteil des Eisens ist an Hämoglobin gebunden und ist somit für die Funktion der Sauerstoffbindung im Blut verantwortlich. Das übrige Eisen verteilt sich auf das im Muskel vorkommende Myoglobin, Eisenspeicher und eisenabhängige Enzyme. Beispiele für eisenabhängige Enzyme sind Cytochrome der Atmungskette, die

antioxidativ wirkenden Katalasen und die Enzyme im Energiestoffwechsel (STANGL 2011).

Für die physiologische Entwicklung der Gameten während der Spermatogenese ist Eisen essentiell. Durch die Blut-Hoden-Schranke haben die Keimzellen keinen systemischen Zugang zu diesem Element, aus welchem Grund ein Shuttle-System im Hoden besteht (LEONHARD-MAREK 2001).

Das eisenbindende Transferrin, welches das Eisen im Plasma transportiert, wird hauptsächlich in den Hepatozyten synthetisiert. Im Übrigen sind Zellen, die an der Ausbildung der Blut-Hoden-Schranke beteiligt sind, selbst in der Lage Transferrin zu produzieren und sezernieren. Dies ist wichtig, um die Zellen jenseits der Blut-Hoden-Schranke mit Eisen zu versorgen (LEONHARD-MAREK 2001).

Das eisenbindende Lactoferrin besitzt multifunktionelle Aufgaben und wird durch die Samenblasendrüse sezerniert (HEKMAN und RÜMKE 1968, TAUBER et al. 1975). Die Funktion des Lactoferrins im Samen ist noch weitgehend unklar.

Prinzipiell wird das Eisen in einer katalytisch inaktiven Form im Seminalplasma durch eisenbindende Enzyme gehalten, wodurch eine überschießende Oxidation durch freie Eisenionen verhindert werden kann (LEONHARD-MAREK 2001).

PESCH et al. (2006) untersuchten den Eisengehalt im equinen Seminalplasma. Es konnte eine positive Korrelation zur Dichte und eine negative Korrelation zum Volumen der Ejakulate hergestellt werden. Aufgrund dessen kann auf eine testikuläre und epididymale Herkunft des Eisens im Seminalplasma geschlossen werden.

Kupfer ( $\text{Cu}^{2+}$ ) besitzt verschiedene Aufgaben, die die Enzymaktivitäten, die Hämatopoese, die Oxidationen, die Reduktionen sowie die Absorptionen betreffen (ROUS und JELINEK 2000). Kupfer existiert zudem in gebundener Form (Coeruloplasmin), um die unkontrollierte Bildung von Sauerstoffradikalen zu verhindern.

Erhöhte Kupferkonzentrationen in der Umgebung können die oxidativen Prozesse und den Glucoseverbrauch der Spermien vermindern, was zu einer reduzierten Motilität bis hin zur vollständigen Unbeweglichkeit führen kann. Des Weiteren kann die Akrosomenreaktion und die Lebensfähigkeit der Spermien beeinträchtigt werden (LEONHARD-MAREK 2001). Die Kupferkonzentrationen sind bei Männern mit Pathospermie geringer als bei Männern mit Normospermie (SKANDHAN und MAZUMDAR 1979).



MASSNYI et al. (2003) ermittelten in einer Studie Kupferkonzentration im Seminalplasma von ausgewählten Spezies. Im Vergleich zu Eber, Bulle und Hengst konnte eine signifikante hohe Konzentration ( $p \leq 0,01$ ) bei Schafböcken und Füchsen nachgewiesen werden.

PESCH et al. (2006) stellten eine positive Korrelation zwischen der Kupferkonzentration im Seminalplasma und dem Ejakulatvolumen bei Hengsten fest. Eine Schlussfolgerung dieser Ergebnisse ist, dass die primäre Herkunft des Kupfers im Seminalplasma auf die akzessorischen Geschlechtsdrüsen zurückgeführt werden kann.

Tabelle 2: Ionische Bestandteile des Seminalplasmas und deren molare Konzentration bei ausgewählten Spezies, zusammengestellt nach MANN und LUTWAK-MANN (1981).

	Rind	Schwein	Schaf	Hund
Natrium (mM)	110	122-365	74	144
Kalium (mM)	34	18-77	23	8
Calcium (mM)	8,8	0,7-2,2	1,6	1,2
Magnesium (mM)	3,9	2,1-5,6	2,4	1,5
Zink (mM)			0,04	1,22
Kupfer (mM)			0,008	0,07
Eisen (mM)			0,03	0,01

Tabelle 3: Zusammensetzung des Prostatasekretes von gesunden Hunden (modifiziert nach BRANAM et al. 1984).

	Mittelwert und Standardabweichung	Schwankungsbereich	Probenanzahl (N)
pH	6.2 + 0.3	5.5 - 7.1	43
Spezifisches Gewicht	1.018 + 0.005	1.008 - 1.028	40
Zink ( $\mu\text{g/ml}$ )	62.3 + 35.3	10.3 - 120.6	20
Kupfer ( $\mu\text{g/ml}$ )	7.1 + 4.8	1.3 - 19.5	20
Eisen ( $\mu\text{g/ml}$ )	0.7 + 0.5	0 - 1.6	20
Calcium ( $\mu\text{g/ml}$ )	13.3 + 20.2	0.3 - 97.0	20
Magnesium ( $\mu\text{g/ml}$ )	16.4 + 9.5	3.4 - 40.0	20

#### 2.2.4 Enzymaktivitäten

Das Seminalplasma der einzelnen Haussäugetierarten beinhaltet eine große Anzahl an verschiedenen Enzymen. Der sekretorische Ursprung durch die akzessorischen Geschlechtsdrüsen ist jedoch noch weitgehend ungeklärt (DOGAN et al. 2009).

Die Enzymaktivität im Seminalplasma spielt eine wichtige Rolle für den spermatogenen Stoffwechsel und für die Spermatozoenfunktion (BROOKS 1990). Zwar sind umfassende Studien zu biochemische Analysen von Enzymaktivitäten im humanen Seminalplasma vorhanden (PANDY et al. 1983, STANWELL-SMITH et al. 1983 CHIA et al. 2000, HUANG et al. 2000), bei den Haussäugetieren sind die genauen Zusammensetzungen und die Funktionen der einzelnen Enzyme hingegen weitestgehend unerforscht.

##### 2.2.4.1 Alkalische Phosphatase (AP)

Die Alkalische Phosphatase ist ein dephosphorylierendes Enzym, das in vielen Geweben, Knochen, Leber, Nieren, Lunge und Plazenta aktiv ist (TURNER und McDONNELL 2003). Das Enzym ist in erster Linie ein Plasmamembranenzym, welches auf der absorbierenden oder sekretorischen Oberfläche von Zellen lokalisiert ist (HOFFMANN et al. 1989). Die genaue Funktion ist nicht bekannt, jedoch scheinen

die desphosphorylierenden Reaktionen wichtig für eine physiologische Fertilität zu sein (BELL und LAKE 1962).

Variable Aktivitäten der Alkalischen Phosphatase wurden im Seminalplasma von unterschiedlichen Spezies dokumentiert (BELL und LAKE 1962, MANN 1964, ABDOU et al. 1974, EL-NAGGAR 1975, JAMES und HEYWOOD 1979, DUBIEL et al. 1982, KELLER und FREUDIGER 1984, MATTHEEUWS et al. 1990).

PESCH et al. (2006) ermittelte im equinen Seminalplasma einen Medianwert von 30200 IE pro Liter Seminalplasma.

Das Vorhandensein der Alkalischen Phosphatase im Seminalplasma, in Protoplasmatropfen der Samenzellen sowie die Kopplung an die Spermienmembran wurden nachgewiesen (SOUCEK und VARY 1984).

MANN (1964) stellte eine Mitwirkung der Alkalischen Phosphatase an glykolytischen Reaktionen und der Bildung von Fructose im Sperma fest. Ihre höchste Aktivität wurde in der spermienreichen Fraktion diagnostiziert (KARESKOSKI et al. 2005).

Die Herkunft des Enzyms im Seminalplasma ist speziesspezifisch. Beim Bullen stammt es hauptsächlich aus der Samenblase (ALEXANDER et al. 1971). TURNER und McDONNELL (2003) dokumentieren beim Hengst hohe Aktivitäten im Hoden und Nebenhoden. Beim Hund wird dieses Enzym hauptsächlich im Nebenhodenschwanz exprimiert (FRENETTE et al. 1986, GOBELLO et al. 2002, STORNELLI et al. 2003). Im Hoden sind keine hohen Konzentrationen der Alkalischen Phosphatase nachweisbar, was allerdings nicht die Möglichkeit ausschließt, dass die testikulären Zellen gewisse Konzentrationen sezernieren (GOBELLO et al. 2002).

Die Aktivität der Alkalischen Phosphatase kann bei Tieren als Marker dienen, um eine Oligo- oder Azoospermie von Ejakulationsstörungen zu differenzieren, wenn die Hauptproduktion des Enzyms im Hoden oder Nebenhoden erfolgt (OLSON 1991).

TURNER und SERTICH (2001) ermittelten Grenzwerte im equinen Seminalplasma nach vollständiger Ejakulation von  $\geq 1000\text{IE/l}$  und  $\leq 100\text{ IE/l}$  bei einer Ejakulationsstörung. Werte, die zwischen diesen Grenzwerten liegen, beschreiben sie als Hinweis auf eine partielle Ejakulation oder eine partielle Blockade.

### 2.2.4.2 Aspartat-Aminotransferase (AST)

Das Vorkommen der Aspartat-Aminotransferase im Ejakulat ist bei verschiedenen Spezies bekannt. Es besteht eine Korrelation von Aktivität der Aspartat-Aminotransferase zwischen Spermienzahl, Motilität und Befruchtungsvermögen. PACE und GRAHAM (1970) stellten fest, dass es bei Schädigungen der Spermien zu einer Zerstörung der Zellmembran kommt und intrazelluläre Enzyme austreten können. Das Enzym wird deshalb als Indikator für den Grad der Samenzellschäden charakterisiert (ROUSSEL und STALLCOUP 1965, PACE und GRAHAM 1970, HILLMANN und TREU 1973).

Bei Schädigungen im Membranbereich der Geißel kann es durch den Austritt der Aspartat-Aminotransferase in das Seminalplasma zu einer Blockierung der Adenosintriphosphat (ATP)-Produktion kommen, was zu einer Immobilität der Spermien führt (COLENBRANDER et al. 1992).

PESCH et al. (2006) ermittelten im equinen Seminalplasma einen Medianwert von 30200 IE/l und analysierten signifikante negative Korrelationen zu den Volumina und signifikante positive Korrelationen zu den Dichten der Ejakulate. Sie folgern daraus, dass das Enzym primär testikulären und epididymalen Ursprungs ist.

### 2.2.4.3 Laktat-Dehydrogenase (LDH)

Die Laktat-Dehydrogenase katalysiert die Umwandlung von Laktat und Pyruvat, was von wichtiger Bedeutung für den Energiestoffwechsel der Spermatozoen ist (ORLANDO et al. 1988). Die Motilität und die Fertilität der Spermatozoen kann aufgrund dessen gewährleistet werden.

Ein spermaspezifisches Laktat-Dehydrogenase Isoenzym (LDH-X) konnte beim Mann nachgewiesen werden (CLAUSEN und OLIVER 1965).

PESCH et al. (2006) analysierten einen Medianwert im equinen Seminalplasma von 81 U/l. Sie stellten eine signifikante negative Korrelation sowohl zu den Volumina als auch zu den Dichten fest. Zudem erkannten sie signifikante Korrelationen zwischen dem Gehalt der Laktat-Dehydrogenase und der Gesamtmotilität, der progressiven Motilität, der Pathomorphologie und der Lebend-Tot-Rate der Spermien.

#### 2.2.4.4 Gamma-Glutamyltransferase (GGT)

Die Gamma-Glutamyltransferase ist testosteronabhängig (HATIER et al. 1994) und ein allgegenwärtiges Enzym, das in vielen Geweben, speziell der Hoden, Nebenhoden und der Samenblase vorkommt (SELIGMAN et al. 2005). Die Gamma-Glutamyltransferase ist relevant für die Funktion humaner Reproduktionsorgane (AGRAWAL und VANHA-PERTTULA 1988, LEE et al. 2000).

Des Weiteren wird dem Enzym eine Schutzfunktion der Spermatozoen gegenüber oxidativem Stress zugeschrieben (LAN et al. 1998).

#### 2.2.4.5 Saure Phosphatase (SP), nicht-prostataspezifische Saure Phosphatase (NSP)

Das Vorkommen der Sauren Phosphatase variiert tierartsspezifisch. Bei Ratten wurde das Enzym im Nebenhoden (TERNER et al. 1975) und in einer testikulären Spermienextraktion nachgewiesen (KORNBLATT et al. 1983). Beim Hengst wurde eine Lokalisation des Enzyms im Nebenhodenkopf sowie im Samen- und Nebenhodenleiter belegt. In der Humanmedizin dient es als Indikator der sekretorischen Funktion der Prostata (COMHAIRE et al. 1989, LÓPEZ et al. 1989). Im Seminalplasma des Ebers wurden vier molekulare Formen der Sauren Phosphatase gefunden, die in verschiedenen Varianten im Nebenhoden, der Prostata und der Bläschendrüse vorkamen (WYSOCKI und STRZEZEK 2000). PESCH et al. (2006) konnten im equinen Seminalplasma zwischen der Aktivität der Sauren Phosphatase und der Spermienzahl eine positive Korrelation und eine negative Korrelation zum Ejakulatvolumen feststellen.

### 2.3 Zusammensetzung des Seminalplasmas beim Rüden

Trotz der Tatsache, dass bereits 1679 erste Forschungen am caninen Seminalplasma durchgeführt wurden, besteht noch immer großer Wissensbedarf über Faktoren, die die Spermastruktur und die Parameter des caninen Seminalplasmas beeinflussen sowie über ihre Beziehung zur Fertilität (OETTLÉ 1993).

Verglichen mit anderen domestizierten Tieren und Menschen besitzt der Rüde den höchsten Gradienten von Natrium und Kalium zwischen Spermatozoen und Seminalplasma (QUINN et al. 1965).

QUINN und WHITE (1967) stellten fest, dass das Natrium-Kalium-Verhältnis bedeutsam für die Spermienmotilität ist. Die Arbeitsgruppe DE SOUZA et al. (2006) hingegen konnte keine Korrelation zwischen Gradienten und der Motilität belegen.

Die Konzentration von Natrium ist im Seminalplasma höher als in den restlichen Bestandteilen des Ejakulats, wohingegen der Gehalt des Kaliums an dieser Stelle geringer als in den anderen Ejakulatanteilen ist (BERNSTEIN 1933).

Die Alkalische Phosphatase im caninen Seminalplasma wird vom Nebenhoden produziert (FRENETTE et al. 1986). Das Enzym kommt in hohen Konzentrationen ( $\geq 10,000$  U/l) in der Nebenhodenflüssigkeit vor. Nur wenige Mengen befinden sich im Hoden und in der Prostata (JOHNSTON 1991).

Da die Alkalische Phosphatase besonders im Nebenhoden exprimiert wird (FRENETTE et al. 1986, GOBELLO et al. 2002, STORNELLI et al. 2003) kann durch Messung der Aktivität im Ejakulat auf eine mangelhafte Entleerung der epididymalen Spermienreservoirs bei einer Obstruktion der samenableitenden Wege oder infolge einer mangelhaften Stimulation geschlossen werden. PESCH et al. (2007) geben einen Wert von  $\geq 10000$  IU/l an, bei dem von einem vollständigen Abgang des Sekretes aus dem Nebenhodenschwanz ausgegangen werden kann. Die genaue Rolle der Alkalischen Phosphatase im caninen Seminalplasma ist nicht bekannt, jedoch ihre Funktion als dephosphorylierendes Enzym als ein wichtiger Bestandteil für die ungestörte Reproduktionsphysiologie (BELL und LAKE 1962).

Die Arbeitsgruppe SCHÄFER-SOMI et al. (2011) analysierte in ihrer Studie ausgewählte Parameter im caninen Seminalplasma. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 zusammengefasst.

Tabelle 4: Zusammensetzung des Seminalplasmas von gesunden Hunden unterschiedlicher Rassen (n = 13). Zusammengestellt nach SCHÄFER-SOMI et al. (2011).

Konzentration	Mittelwert und Standardabweichung
Calcium (mmol/l)	1±4
Natrium (mmol/l)	173 ± 199
Kalium (mmol/l)	10,5 ± 3,3
Phosphat (mmol/l)	0,8 ± 0,5
Kupfer (mg/l)	6,1 ± 6,4
Zink (mg/l)	77,9 ± 71,9

#### 2.4 Ejakulatgewinnung beim Rüden

Bereits in den 50er Jahren beschäftigten sich HARROP (1954) und andere Wissenschaftler mit verschiedenen Möglichkeiten der caninen Spermagewinnung.

Die epididymale Spermagewinnung erfolgt zusammen mit einer Kastration, da zur Gewinnung des Ejakulates die Hoden des Rüden notwendig sind. Bei dieser Methode wird der Nebenhoden nach Entfernung des Hodens abgetrennt. Nach Freilegung der *Ducti epididymidis* werden diese mit einer Spritze durchspült und das Sperma am anderen Ende des Ductus in einem Gefäß aufgefangen. Ein großer Nachteil dieser Methode ist die notwendige Kastration des Tieres und der damit verbundene Zuchtausschluss (HORI et al. 2003).

Die Elektroejakulation erfolgt mittels transrektaler Stimulation der akzessorischen Geschlechtsdrüsen. Laut PESCH et al. (2007) sind auf diese Weise gewonnene Ejakulate qualitativ herabgesetzt. CHRISTENSEN et al. (2011) verglichen in einer Studie Sperma, das durch manuelle Stimulation gewonnen wurde mit durch Elektroejakulation gewonnenem Sperma. Letztere Ejakulationsproben zeigten nach 24 Stunden keine Motilität mehr. Nachteilig ist zudem, dass die Samengewinnung mittels Elektroejakulation unter einer Allgemeinanästhesie erfolgt. Von WYROBEK et al. (1981) werden die negativen Einflüsse von Anästhetika auf die Spermienmorphologie beschrieben.

Die künstliche Vagina, die bereits 1914 von AMANTEA vorgestellt wurde, stellt bei der Ejakulatgewinnung des Rüden einen Sonderfall dar. Der Nachteil dieser Methode

ist, dass die verschiedenen Hunderassen und -größen einen hohen Aufwand an Gerätschaften zur Samengewinnung erfordern. MACPHERSON und PENNER (1967) veröffentlichten eine Studie über die physische Akzeptanz von Tieren auf die Spermagewinnung und die Insemination. Dabei zeigte sich, dass einige Probanden physische Abneigungen gegenüber der künstlichen Vagina entwickelten.

Im Gegenzug dazu betonten sie die Vorteile der manuellen Stimulation, die zum einen verlässlichere Ergebnisse aufweist und zum anderen eine leichte Separierung der drei Fraktionen ermöglicht.

Die manuelle Stimulation zur Gewinnung des Ejakulates ist die am häufigsten angewendete Methode beim Rüden und wurde bereits von verschiedenen Wissenschaftlern beschrieben (SEAGER 1986, GÜNZEL-APEL 1994, LINDEFORSBERG 1995). In einem Review von KUTZLER (2005) wurden die sich ähnelnden Verfahren zusammengefasst und lediglich in den letzten Jahren von verschiedenen Forschungsgruppen modifiziert.

Die manuelle Stimulation erfolgt hygienisch unbedenklich und erlaubt eine einfache und saubere Trennung der drei Fraktionen (GÜNZEL-APEL 1994). Zudem erfolgt sie unter weitestgehender Anpassung an die physiologischen Gegebenheiten des Paarungsablaufes und erlaubt eine Aussage im Hinblick auf die *Libido sexualis* (HOFFMANN 2003, GÜNZEL-APEL 1994).

Für den erfolgreichen Ablauf der manuellen Samengewinnung ist ein abgedunkelter und ruhiger Untersuchungsraum von Vorteil. Zur Gewinnung des Ejakulates werden drei vorgewärmte Gläser, nicht spermizide Handschuhe und Papiertücher zur Reinigung des Präputiums benötigt (ALTHOUSE et al. 1991, GÜNZEL-APEL 1994). Junge, trainierte und hypersexuelle Rüden reagieren relativ rasch mit Aufnahme der zur Samenabgabe führenden Reflexkette (PESCH et al. 2007). Bei unerfahrenen und älteren Rüden ist die Anwesenheit einer läufigen Hündin, die sich im Proöstrus oder im Östrus befindet, gegebenenfalls notwendig (KUTZLER 2005).

Steht keine läufige Hündin zur Verfügung, kann eine sich nicht im Östrus befindliche Hündin präsentiert werden. Zur Erhöhung der Stimulation kann die „Animierhündin“ mit einer Lösung aus einer Komponente eines Pheromoncocktails (Methyl 4-hydroxybenzoat) präpariert werden (GOODWIN et al. 1979, KUTZLER 2005).

Da das Interesse an solchen präparierten Hündinnen meist nur von kurzer Dauer ist, sollte ein direkter Kontakt zwischen Hündin und Rüde erst mit Beginn der manuellen Stimulation zugelassen werden (PESCH et al. 2007).



Die Samengewinnung kann bei kleinen und mittelgroßen Hunden auf dem Tisch durchgeführt werden. Bei großen Rüden erfolgt sie auf dem Fußboden (GÜNZEL-APEL 1994). Von Zwangsmaßnahmen sollte so weit wie möglich abgesehen werden. Vor der Samenentnahme wird die Präputialöffnung des Rüden mit Zellstoff trocken gereinigt. Kopf und Hals der Hündin werden fixiert. Sobald der Rüde Interesse zeigt und einen Aufsprungversuch beginnt, wird der Penis abgelenkt (ALLEN 1994).

Eine Massage des Bulbusschwellkörpers folgt bis dieser sich leicht abgrenzen lässt und einen gewissen Grad der Erektion erreicht hat. Der Penis wird anschließend aus dem Präputium vorgelagert und rhythmisch massiert. Dies erfolgt mit Daumen und Zeigefinger der rechten Hand, die sich an den Fingerspitzen berührend zu einem Ring verbunden haben. Der Handrücken des Operators zeigt dabei zum Bauch des Rüden (GÜNZEL-APEL 1994). Eine Druckausübung auf den Penis wird vermieden. Noch vor der vollständigen Erektion kann bereits das Vorsekret abgehen. Beginnt der Rüde seine Hinterbeine zu heben, erfolgt die Umlagerung des Penis um 180° nach kaudal. Der Penis ist in diesem Bereich sehr elastisch, so dass keine Schmerzen für das Tier entstehen (GRANDAGE 1972). Er sollte bis zur vollständigen Abgabe des Prostatasekretes in dieser Lage festgehalten werden.

Die trübe zweite sowie die klare dritte Fraktion werden getrennt voneinander in vorgewärmten Gläsern aufgefangen. Die Abgabe der spermienreichen zweiten Fraktion erfolgt meist innerhalb von zwei Minuten (KUTZLER 2005).

Durch plötzliche Erschlaffung des Penis wird das Ende der Samengewinnung angekündigt und die Fixation gelöst. Im Anschluss wird die Penisoberfläche prophylaktisch mit einer antibiotikahaltigen Salbe versorgt und die Glans in die Präputialhöhle zurück verlagert (ALLEN 1994, GÜNZEL-APEL 1994).

### 3 Material und Methoden

Es standen insgesamt Ejakulate von 50 Rüden aus dem Patientengut der Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere mit Tierärztlicher Ambulanz der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Verfügung (Tabelle 5). Die Probenentnahme erfolgte in der Zeit von November 2007 bis Mai 2010.

Das Lebensalter der Rüden lag zwischen einem und 10 Jahren.

Von allen Tieren wurde ein standardisierter Vorbericht aufgenommen, der Rasse, Alter, Anzahl der gedeckten und tragenden Hündinnen, Befruchtungsergebnisse und den Zeitpunkt des letzten erfolgreichen Deckeinsatzes berücksichtigte. Zudem wurde eine Anamnese zur Erfassung der *Libido sexualis* und sonstige Besonderheiten (Vorbehandlungen, Fütterung, Haltung) durchgeführt.

Anschließend folgten eine Allgemeinuntersuchung (Erhebung der Pulsfrequenz, Atmungsfrequenz, rektalen Körpertemperatur), sowie eine spezielle andrologische Untersuchung. Hierbei wurden die Hoden, das Skrotum, der Nebenhoden, der Penis und das Präputium adspektorisch und palpatorisch untersucht und die Befunde dokumentiert. Die Ejakulate wurden in Anwesenheit einer läufigen Hündin bzw. einer mit dem Lockstoff p-methyl-Benzoesäure präparierten Hündin, fraktioniert gewonnen (PESCH et al. 2007). Des Weiteren wurde auf die Vollständigkeit der Erektion und den Ablauf der Reflexkette geachtet.

Tabelle 5: Rasseverteilung der untersuchten Rüden (n = 50)

Rasse	Anzahl der Tiere
Beagle	12
Schäferhund	10
Labrador	1
Australien Shepherd	2
Lhasa Apso	2
Entlebucher	1
Jack Russel Terrier	1
Rodesian Ridgeback	3
Golden Retriever	2
Boxer	1
Deutscher Pinscher	1
Leonberger	1
Pointer	1
Kleiner Münsterländer	1
Havanese	1
Rottweiler	2
Husky	1
Mix	1
Wachtel	1
Hovawart	1
Collie	2
Cocker Spaniel	1
Groenendael	1

Die Ejakulate wurden einer biologischen Samenuntersuchung unterzogen, wobei die Grundgesamtheit aufgrund der Ejakulateigenschaften in zwei Hauptgruppen eingeteilt wurde (Tabelle 6).

Tabelle 6: Gruppeneinteilung der Ejakulate

<b>Diagnose</b>	<b>Gruppe</b>	<b>Anzahl der Tiere</b>
Normospermie	1	20
Pathospermie	2	30

Der Begriff Normospermie besagt, dass die Mindestanforderungen (Tabelle 8) der Ejakulateigenschaften gegeben sind und mit hoher Wahrscheinlichkeit eine ungestörte Zeugungsfähigkeit vorliegt.

Die Pathospermie ist durch erhebliche Abweichungen von der Mindestnorm charakterisiert und führt zu einer herabgesetzten bis völlig fehlenden Zeugungsfähigkeit (Tabelle 7). In der vorliegenden Arbeit wurde diese Allgemeinbeurteilung für alle pathologisch vorliegenden Befunde benutzt, die Beurteilung des Ausprägungsgrades wurde nicht differenziert ausgewertet.

Aus der Tabelle 7 ist die gebräuchliche spermatologische Nomenklatur der erhobenen Befunde zu ersehen.

Tabelle 7: Spermatologische Nomenklatur modifiziert nach WEITZE (2001)

Nomenklatur	Begriffserklärung
Normospermie	Spermabefunde erfüllen ausnahmslos die Mindestanforderungen entspricht mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit Potentia generandi
Pathospermie	Spermabefunde weisen hochgradige Abweichungen von den Mindestanforderungen auf Entspricht völliger oder partieller Impotentia generandi
Beurteilung des Ausprägungsgrades	
<b>Geringgradig bis hochgradig</b>	
Oligozoospermie	Verminderte Spermienzahl
Teratozoospermie	Veränderte Spermienmorphologie
Hypokinozoospermie	Verminderte Bewegungsaktivität der Samenzellen
<b>Vollständig („total“)</b>	
Azoospermie	Völliges Fehlen von Spermien

Tabelle 8: Qualitätskriterien für Rüdenejakulate (modifiziert nach HOFFMAN 2003 und RIESENBECK et al. 2001)

Kriterium	Referenzwerte
Vorwärtsbewegliche Spermien (%)	≥ 75%
Morphologisch veränderte Spermien (%)	≤ 20%
pH-Wert	6,2 – 7,2
Gesamtpermienzahl ( $\times 10^9$ )	≥ 0,3 – 1,0 <sup>1</sup>
Volumen spermienreiche Fraktion (ml)	0,5 – 2,0
<sup>1</sup> abhängig von der Körpergröße; z. B. Dackel ≥ 0,3, Dobermann ≥ 1,0	

### 3.1 Probenentnahme

Die Desemination erfolgte mittels Masturbation in Anwesenheit einer läufigen Hündin oder mit Hilfe des Lockstoffes p-methyl-Benzoesäure durch einen Tierarzt in der Kleintierabteilung der Justus-Liebig-Universität.

Die trockene Reinigung der Präputialöffnung mittels Zellstoff wurde bei jedem Rüden vor der Probengewinnung durchgeführt, um Kontaminationsquellen wie Fäkalien und Präputialsekrete weitgehend zu entfernen.

Nach Anlegen von Handschuhen wurde als erster Schritt der Probenentnahme der Bulbusschwellkörper sanft massiert (Abbildung 1). Nach dessen Erektion erfolgte die Vorlagerung des Penis aus dem Präputium, wobei mit dem Daumen und Zeigefinger hinter dem Bulbusschwellkörper am Penisschaft ringförmig umschlossen wurde und mit den restlichen Fingern die weitere rhythmische Massage erfolgte.

Nachdem das Anheben der Hinterbeine des Tieres beobachtet wurde, erfolgte die Umlagerung des Penis um 180° kaudal, um das Hängen zu imitieren.



Abbildung 1: Samenentnahme beim Rüden (PESCH et al. 2007)

Das Ejakulat wurde bei physiologischer Ejakulation in drei Fraktionen gesammelt: Vorsekret, spermienreiche Hauptfraktion und Nachsekret. Als Auffangbehältnisse wurden graduierte tulpenförmige Auffanggläser verwendet (Abbildung 2), die zuvor auf eine Temperatur von 37°C erwärmt wurden.



Abbildung 2: Ejakulatfraktionen (PESCH et al. 2007)

links: Vorsekret (klar/wässrig), Mitte: spermienreiche Fraktion (weiß/milchig),  
rechts: Nachsekret (klar bis trüb/wässrig)

Nach vollständiger Erektion setzte die Ejakulation der spermienreichen 2. Fraktion ein. Durch den Wechsel des Sekrets von milchig-trüb nach wässrig-klar wurde der Übergang zum anschließenden Abgang der 3. Fraktion deutlich. Auch hierbei wurde das Tulpenglas gewechselt und die spermienarme Fraktion gewonnen. Alle Fraktionen wurden grobsinnlich auf Farbe, Konsistenz, Volumen, Beimengungen und

Geruch untersucht. Nach Beendigung der manuellen Stimulation wurden alle Probanden bis zur vollständigen Rückverlagerung des Penis tierärztlich überwacht, um Verletzungen zu vermeiden. Zudem wurde eine keimhemmende Salbe zur Infektionsprophylaxe auf die Penisschleimhaut aufgetragen.

Es folgte die weitere Gewinnung des Seminalplasmas von jedem Ejakulat. Hierbei wurden circa 4 ml des Ejakulates unmittelbar nach der Gewinnung in sterile Röhrchen der Firma Sarstedt bei einer Umdrehungszahl von 2000 U/min (700g) für 10 Minuten zentrifugiert (Rotina 35R Hettich). Anschließend wurde der Überstand dekantiert und die gewonnene Probe erneut für 10 Minuten bei einer Umdrehungszahl von 2000 U/min (700g) zentrifugiert. Die Abwesenheit von Spermien im Seminalplasma wurde lichtmikroskopisch kontrolliert und das Spermienpellet verworfen.

Das gewonnene Seminalplasma wurde bis zur Analyse in Reaktionsgefäßen 3810 × 1,5ml Eppendorf Tubes bei einer Temperatur von -20 Grad tiefgefroren.

### 3.1.1 Vorversuch

In diesem Vorversuch sollte geprüft werden, ob das Tiefgefrieren der Proben zu einer negativen Beeinflussung der Enzymaktivität im Seminalplasma führt. Zur Verfügung standen 16 Seminalplasma-Proben mit jeweils drei Fraktionen. Die photometrische Messung der Enzymaktivität der Proben erfolgte mittels EPAC 6140 Eppendorf.

Gemessen wurden die Aktivitäten der folgenden Enzyme: Alkalische Phosphatase (AP), Saure Phosphatase (SP), nicht-prostataspezifische Saure Phosphatase (NSP), Aspartat-Amino-Transferase (AST), Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT) sowie Laktatdehydrogenase (LDH).

Die Bestimmung der Enzymaktivität wurde am entsprechenden Tag der Probengewinnung durchgeführt (Tag 0), anschließend wurden alle 3 Fraktionen tiefgefroren gelagert.

Die 2. Messung wurde exakt einen Tag später durchgeführt und die Proben erneut tiefgefroren.

Die 3. und 4. Bestimmung der Enzymaktivitäten erfolgten eine Woche und vier Wochen später. Auch bei diesen Messungen wurden alle Fraktionen erneut tiefgefroren.



## 3.2 Bestimmungsmethoden

### 3.2.1 Elektrolytkonzentrationsbestimmung

Folgende Konzentrationen von Mengen- und Spurenelemente wurden im Seminalplasma ermittelt: Zink, Kupfer, Eisen, Natrium, Kalium, Calcium, Magnesium und anorganisches Phosphat. Die Bestimmung für die Mengenelemente Natrium, Kalium und Calcium erfolgte mittels Flammenphotometrie EFOX 5053 Eppendorf (Abbildung 3). Bei diesem Relativmessverfahren liegt als Messprinzip die Emissionsflammenphotometrie zu Grunde.

Bei dieser Analysemethode wird die Ionenkonzentration aus dem Messsignal einer unbekannt Probe mit dem Signal einer bekannten Standardlösung verglichen und durch das Gerät schematisch berechnet.

Da die Konzentrationen der zu messenden Elektrolyte für die direkte Bestimmung zu hoch sind, werden die Proben automatisch im Verhältnis 1:50 verdünnt. Die Messsubstanz (Seminalplasma) wird in gelöster Form in eine nicht leuchtende Flamme fein verteilt. Durch die Anregung der einzelnen Atome kommt es zum Aufleuchten der Flamme. Die ausgestrahlte Lichtmenge wird umso stärker, je mehr Atome vorhanden sind. Aus Messung der Leuchtdichte der Flamme kann die Konzentration der Messlösung errechnet werden. Die charakteristische Lichtfarbe der einzelnen Elemente wird durch den Aufbau der Atome bestimmt, so dass genau festliegende Wellenlängen ausgestrahlt werden. Aufgrund der vorhandenen Elemente in einer Probe werden Lichtgemische ausgestrahlt, die jedoch mit Hilfe eines optischen Filters auf das gewünschte Element isoliert werden. Eine Photodiode wandelt das Licht in ein elektrisches Signal um, welches weiter verstärkt und digitalisiert wird. Durch den nachgeschalteten Rechner kann die Konzentration berechnet und angezeigt werden.

Die photometrische Bestimmung von Magnesium, anorganisches Phosphat, Kupfer, Zink und Eisen erfolgt mittels Spektralphotometer EPAC 6140 Eppendorf.

Die Bestimmung erfolgt mittels Endpunktverfahren, bei welcher die Extinktion der Proben und des Standards gegen den Leerwert spektralphotometrisch bei vorgegebenen Wellenlängen gemessen wird. In der Tabelle 9 ist die Methode wiedergegeben, die durch die entsprechenden genannten Geräte Anwendung fanden.



Abbildung 3: Flammenphotometer, EFOX 5053, Eppendorf

Tabelle 9 : Übersicht der verwendeten Bestimmungsmethoden zur Ermittlung der Spuren- und Mengenelementkonzentrationen

Element	Methode (Wellenlänge, Sonstiges)
Zink (Gesamt) ohne Enteiweißung	Photometrischer Farbtest (546 nm, 5-Br-PAPS)
Kupfer (Gesamt) ohne Enteiweißung	Photometrischer Farbtest (578 nm, 3,5-diBr-PAESA)
Eisen (Gesamt) ohne Enteiweißung	Photometrischer Farbtest (578 nm, Messung gegen Leerwert)
Natrium	Flammenphotometrie (589 nm)
Kalium	Flammenphotometrie (768 nm)
Calcium (Gesamt)	Flammenphotometrie (622 nm)
Magnesium	Photometrischer Farbtest (546 nm, Messung gegen Leerwert, Xilidylblau-Methode)
Phosphat, anorganisch	Photometrischer Farbtest (340 nm, Messung gegen Leerwert, anorg. Phosphormolybdat-Komplex)

### 3.2.2 Enzyme

Folgende Enzymaktivitäten wurden in den vorliegenden Proben gemessen: Alkalische Phosphatase (AP), Saure Phosphatase (SP), nicht-prostataspezifische Saure Phosphatase (NSP), Aspartat-Amino-Transferase (AST), Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT) sowie Laktatdehydrogenase (LDH).

Die Bestimmung der Enzyme erfolgte ebenfalls mittels Spektralphotometer EPAC 6140 Eppendorf (Abbildung 4). Die Messung der Enzymaktivität erfolgte kinetisch, wobei alle im Rotor befindlichen Proben parallel gemessen wurden (Tabelle 10). Der Rotor dreht dabei kontinuierlich und während der Messzeit werden laufend Messpunkte der einzelnen Küvetten aufgenommen. Die gemessene Extinktionsdifferenz wurde auf eine Minute umgerechnet und die Auswertung erfolgte über einen vorgegebenen Faktor.

Tabelle 10 : Übersicht der verwendeten Bestimmungsmethoden zur Ermittlung der enzymatischen Aktivitäten

Enzym	Methode
AP	Optimierte Standardmethode der DGKC (405 nm, Messung gegen Luft)
SP/NSP	Modifizierte Methode nach HILLMANN (1971) mit 1,5-Pentandiol-Aktivierung (405 nm)
AST	Optimierte Standardmethode der DGKC (340 nm, Messung gegen Luft)
GGT	Kinetischer Farbttest nach SZASZ und PERSIJN (1974) (405 nm)
LDH	Optimierte Standardmethode der DGKC (UV-Test: 340 nm, Messung gegen Luft)

Die Bestimmungen erfolgten als optimierte Standardmethoden entsprechend den Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für klinische Chemie mit den Bestimmungskits der Firma Labor+Technik, Lehmann, Berlin.



Abbildung 4: Spektralphotometer EPAC 6140 Eppendorf

### 3.2.3 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit Hilfe von Herrn Holger Wunderlich (Ruhr-Universität Bochum) sowie der Arbeitsgruppe Biomathematik und Datenverarbeitung des Fachbereichs Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen.

Alle Daten wurden in Excel®-Datenblätter zusammengefasst und mit dem Statistikprogramm SPSS (Version 19) getrennt nach den einzelnen drei Fraktionen ausgewertet. Die grafische Darstellung erfolgte ebenfalls mit dem Programm SPSS (Version 19). Der Gruppenvergleich im Hauptversuch sowie die statistische Auswertung des Vorversuchs erfolgten anhand nicht parametrischer Verfahren.

Ein großer Vorteil von nicht parametrischen Tests liegt darin, dass diese Methoden Stichproben aus nicht normalverteilten Grundgesamtheiten vergleichen können (JANSSEN und LAATZ 2007) und deshalb in dieser Studie gewählt wurden.

Für alle Berechnungen der statistischen Auswertung gilt  $p \leq 0,05$  als statistisch signifikant und  $p \leq 0,01$  als statistisch hochsignifikant.

Aufgrund der unterschiedlichen Fragestellung im Vor- und Hauptversuch waren zwei verschiedene Tests notwendig.

Die im Vorversuch gemessenen Enzymaktivitäten wurden mit Hilfe des Friedman-Tests (William Friedman) ausgewertet. Bei diesem nicht parametrischen Test handelt es sich um eine zweifache Varianzanalyse mit Rangzahlen, wobei abhängige Stichproben auf signifikante Unterschiede getestet werden (JANSSEN und LAATZ 2007).

Die Enzymaktivitäten und Konzentrationen der Spuren- und Mengenelemente im Hauptversuch wurden mit Hilfe des Mann-Whitney-Tests („Mann-Whitney-U-Test“, „U-Test“) ausgewertet und auf statistische Signifikanz geprüft. Auch bei diesem Testverfahren handelt sich um einen parameterfreien Test allerdings für unabhängige Stichproben (JANSSEN und LAATZ 2007). Entwickelt wurde dieser Test von Henry Mann und Donald Whitney sowie Frank Wilcoxon und wird aufgrund dessen auch Mann-Whitney-Wilcoxon-Test oder Wilcoxon-Rangsummentest genannt.

Mit Hilfe der deskriptiven Statistik wurden Mittelwerte außerdem Minimal- und Maximalwerte berechnet und in Tabellen sowie in Diagrammen zusammengefasst. Die ermittelten Parameter sind mit einer Nachkommastelle angegeben.

Arithmetische Mittel können durch Ausreißer und Extremwerte verzerrt werden, weshalb der Median zur statistischen Auswertung herangezogen wurde. Aufgrund dessen wurden die ausgewerteten Variablen mit Hilfe von Box and Whiskers Plots (Boxplots) dargestellt. Die Box des Boxplots ist das Rechteck, in dem sich 50 % der Daten befinden. Die Whiskers („Antennen“ oder „Fühler“) veranschaulichen die Werte, die außerhalb der Box liegen und zeigen die höchsten bzw. niedrigsten Werte des Indikators für die jeweilige Gruppe an, die keine Ausreißer sind. Der Median, der exakt in der Mitte liegt (50 %-Quartil) und die horizontale Markierung darstellt, halbiert die Box in zwei Hälften und stellt die zentrale Tendenz des Indikators innerhalb der Gruppe dar. Das untere Quartil ( $x_{0,25}$  oder 25%-Quartil) ist der Wert, unterhalb dessen 25 % der Daten liegen. Das obere Quartil ( $x_{0,75}$  oder 75%-Quartil) zeigt den Wert bei dem 75 % der Daten darunter liegen. Die untere Grenze der Box ist durch das untere Quartil gegeben. Die obere Grenze der Box ist durch das obere Quartil festgelegt. Demzufolge liegt die Hälfte aller Werte in der Box. Ausreißer, die mehr als 1,5 bis 3 Boxenlängen vom oberen bzw. unteren Rand entfernt sind, werden mit einem Kreis gekennzeichnet. Extremwerte, die mehr als drei Boxenlängen abweichen, werden mit einem Stern gekennzeichnet (TOUTENBURG und KNÖFEL 2009).

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Vorversuch

Für den Vergleich der Enzymaktivitäten nach dem Tiefgefrieren wurden Proben von 16 Rüden bewertet. Die statistische Auswertung der Enzymaktivität erfolgte getrennt nach den einzelnen drei Fraktionen.

Die 1. Messung wurde am entsprechenden Tag der Probengewinnung (Tag 0) durchgeführt. Anschließend wurden die Fraktionen tiefgefroren gelagert. Die 2., 3. und 4. Messung erfolgte nach dem 1., 7. und 30. Tag, wobei alle Proben im Anschluss erneut tiefgefroren wurden.

#### 4.1.1 Fraktion 1

##### 4.1.1.1 Alkalische Phosphatase

Die Enzymaktivitäten der Alkalischen Phosphatase zeigten Unterschiede an den Tagen 0, 1, 7, und 30. Dies ist in Tabelle 11 und in Abbildung 5 dargestellt.

Tabelle 11: Arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) und Standardabweichungen (SD) der Aktivität der Alkalischen Phosphatase in der ersten Ejakulatfraktion beim Rüden sowie Minimal- und Maximalwerte an den Tagen 0, 1, 7 und 30.

Enzymaktivität (U / l)	Tag	$\bar{x} \pm SD$	Minimalwert	Maximalwert
	0	6513,5 $\pm$ 7897,8	35,0	21700,0
	1	6813,5 $\pm$ 7743,5	35,0	19000,0
	7	4510,0 $\pm$ 6568,9	0,0	20100,0
	30	2580,0 $\pm$ 3942,3	0,0	11600,0

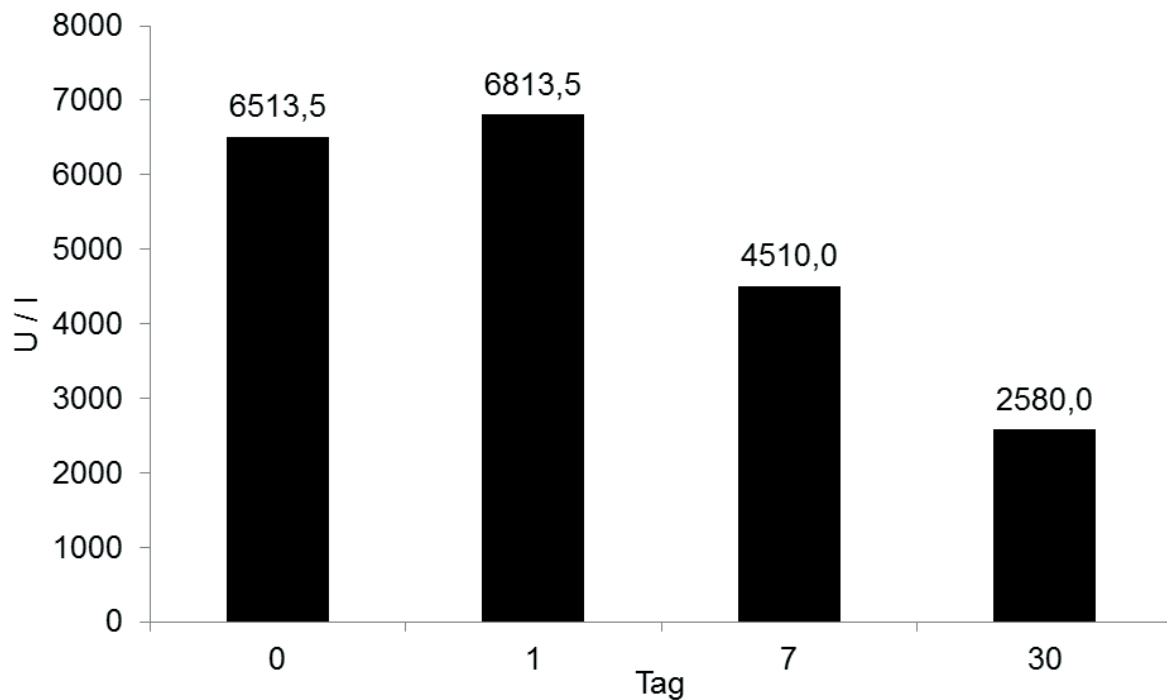


Abbildung 5: Arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) der Aktivität der Alkalischen Phosphatase in der ersten Ejakulatfraktion beim Rüden zu dem jeweiligen Untersuchungszeitpunkt.

Bei der statistischen Auswertung der Enzymaktivität der Alkalischen Phosphatase in Fraktion 1 konnten im untersuchten Zeitintervall statistisch signifikante Unterschiede ( $p = 0,002$ ) dokumentiert werden (Abbildung 5).

#### 4.1.1.2 Aspartat-Amino-Transferase

Die Enzymaktivität der Aspartat-Amino-Transferase zeigte Unterschiede an den Tagen 0, 1, 7, und 30 (Tabelle 12, Abbildung 6).

Tabelle 12: Arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) und Standardabweichungen (SD) der Aktivität der Aspartat-Amino-Transferase in der ersten Ejakulatfraktion beim Rüden sowie Minimal- und Maximalwerte an den Tagen 0, 1, 7 und 30.

Enzymaktivität (U/ l)	Tag	$\bar{x} \pm SD$	Minimalwert	Maximalwert
	0	11,0 $\pm$ 9,7	4,0	30,0
	1	11,1 $\pm$ 9,0	4,0	28,0
	7	4,1 $\pm$ 3,3	0,0	11,0
	30	3,1 $\pm$ 3,7	0,0	11,0

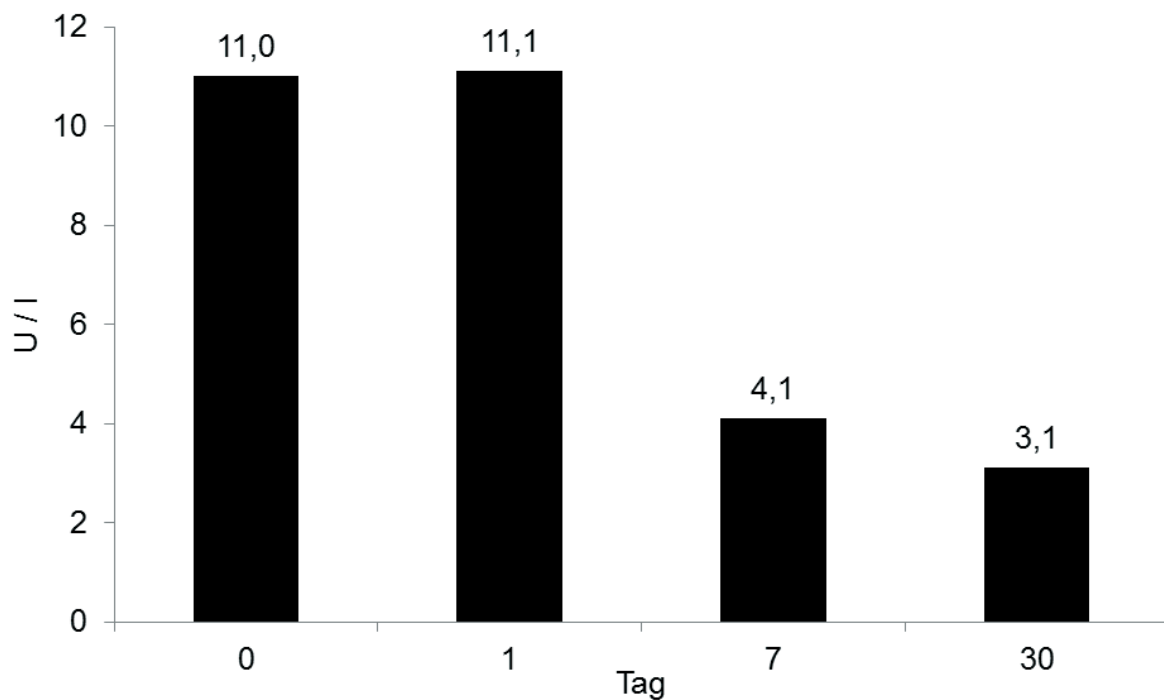


Abbildung 6: Arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) der Aktivität der Aspartat-Amino-Transferase zu dem jeweiligen Untersuchungszeitpunkt.



Bei der statistischen Auswertung der Enzymaktivität der Aspartat-Amino-Transferase in Fraktion 1 konnten im untersuchten Zeitintervall statistisch signifikante Unterschiede ( $p = 0,002$ ) dokumentiert werden (Abbildung 6).

#### 4.1.1.3 Gamma-Glutamyl-Transferase

Die Aktivität der Gamma-Glutamyl-Transferase variierte an den Tagen 0, 1, 7, und 30. Dies ist in Tabelle 13 und in Abbildung 7 dargestellt.

Tabelle 13: Arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) und Standardabweichungen (SD) der Aktivität sowie Minimal- und Maximalwerte der Gamma-Glutamyl-Transferase in der ersten Ejakulatfraktion beim Rüden an den Tagen 0, 1, 7 und 30.

Enzymaktivität (U/ l)	Tag	$\bar{x} \pm SD$	Minimalwert	Maximalwert
	0	111,7 $\pm$ 88,0	23,0	240,0
	1	109,6 $\pm$ 83,2	24,0	200,0
	7	99,9 $\pm$ 87,9	22,0	210,0
	30	138,9 $\pm$ 120,6	20,0	330,0

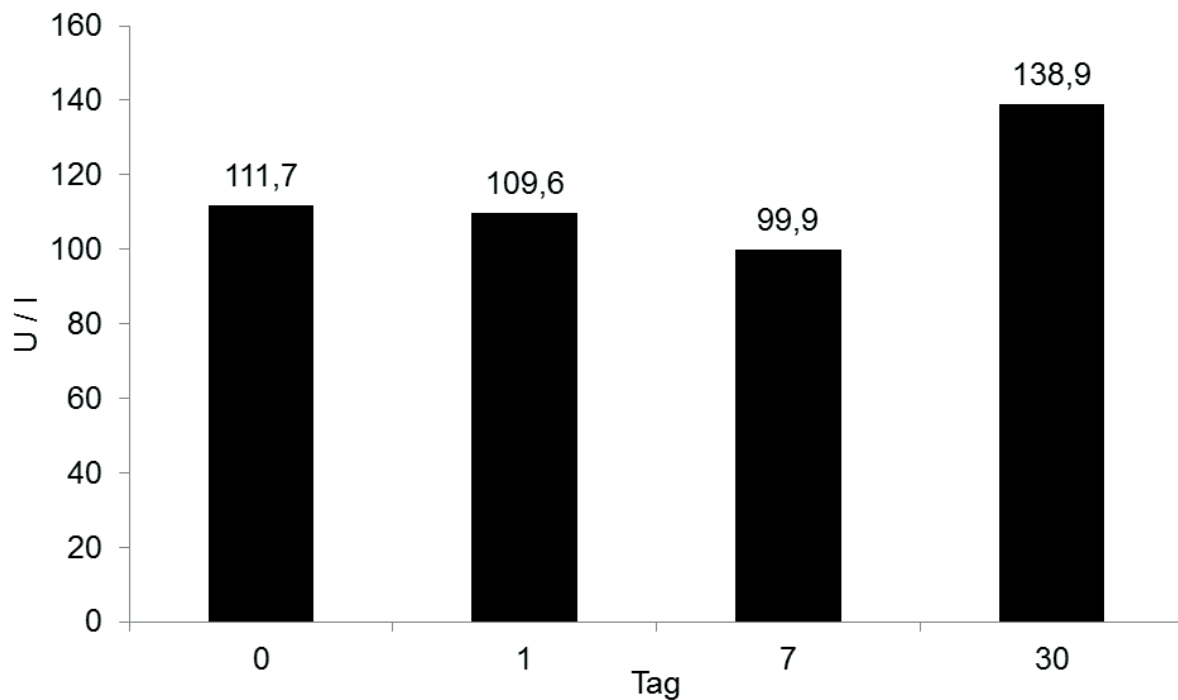


Abbildung 7: Arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) der Aktivität der Gamma-Glutamyl-Transferase zu dem jeweiligen Untersuchungszeitpunkt.

Statistisch signifikante Unterschiede im untersuchten Zeitintervall konnten nicht berechnet werden ( $p = 0,613$ ).

#### 4.1.1.4 Laktatdehydrogenase

Die Laktatdehydrogenase zeigte an den Tagen 0, 1, 7, und 30 unterschiedliche Aktivitäten. Dies ist in Tabelle 14 und Abbildung 8 dargestellt.

Tabelle 14: Arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) und Standardabweichungen (SD) der Aktivität in der ersten Ejakulatfraktion beim Rüden sowie Minimal- und Maximalwerte der Laktatdehydrogenase an den Untersuchungstagen 0, 1, 7 und 30.

Enzymaktivität (U/l)	Tag	$\bar{x} \pm SD$	Minimalwert	Maximalwert
	0	66,7 $\pm$ 89,0	1,0	237,0
	1	53,9 $\pm$ 74,0	1,0	206,0
	7	12,7 $\pm$ 15,0	0,0	43,0
	30	2,0 $\pm$ 3,0	0,0	8,0

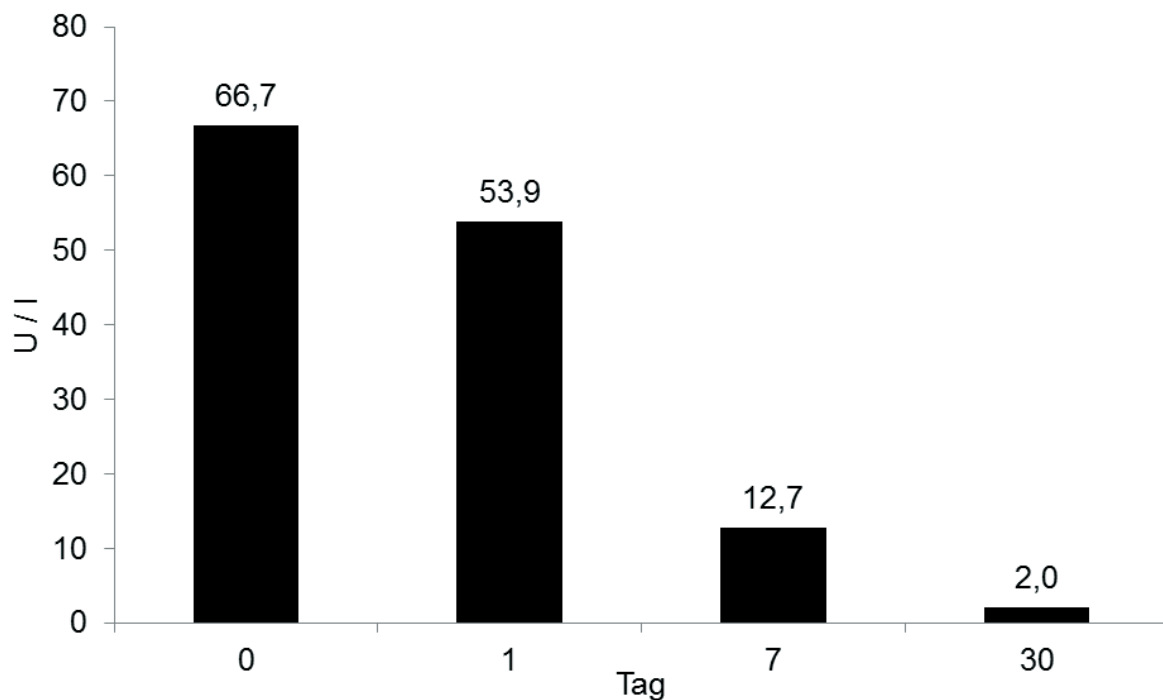


Abbildung 8: Arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) der Aktivität der Laktatdehydrogenase zu dem jeweiligen Untersuchungszeitpunkt.

Bei der statistischen Auswertung der Enzymaktivität der Laktatdehydrogenase in Fraktion 1 konnten im untersuchten Zeitintervall statistisch hochsignifikante Unterschiede ( $p = 0,001$ ) dokumentiert werden (Abbildung 8).

### 4.1.1.5 Saure Phosphatase

Die Enzymaktivität der Sauren Phosphatase variierte an den Tagen 0, 1, 7, und 30. Dies ist in Tabelle 15 zusammengefasst und in Abbildung 9 grafisch dargestellt.

Tabelle 15: Arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) und Standardabweichungen (SD) der Aktivität in der ersten Ejakulatfraktion beim Rüden sowie Minimal- und Maximalwerte der Sauren Phosphatase an den Untersuchungstagen 0, 1, 7 und 30.

<b>Enzymaktivität (U/ l)</b>	<b>Tag</b>	<b><math>\bar{x} \pm SD</math></b>	<b>Minimalwert</b>	<b>Maximalwert</b>
	0	737,5 $\pm$ 665,4	130,0	1845,0
	1	904,5 $\pm$ 746,5	90,0	2070,0
	7	855,0 $\pm$ 689,1	90,0	1800,0
	30	571,5 $\pm$ 472,5	45,0	1260,0

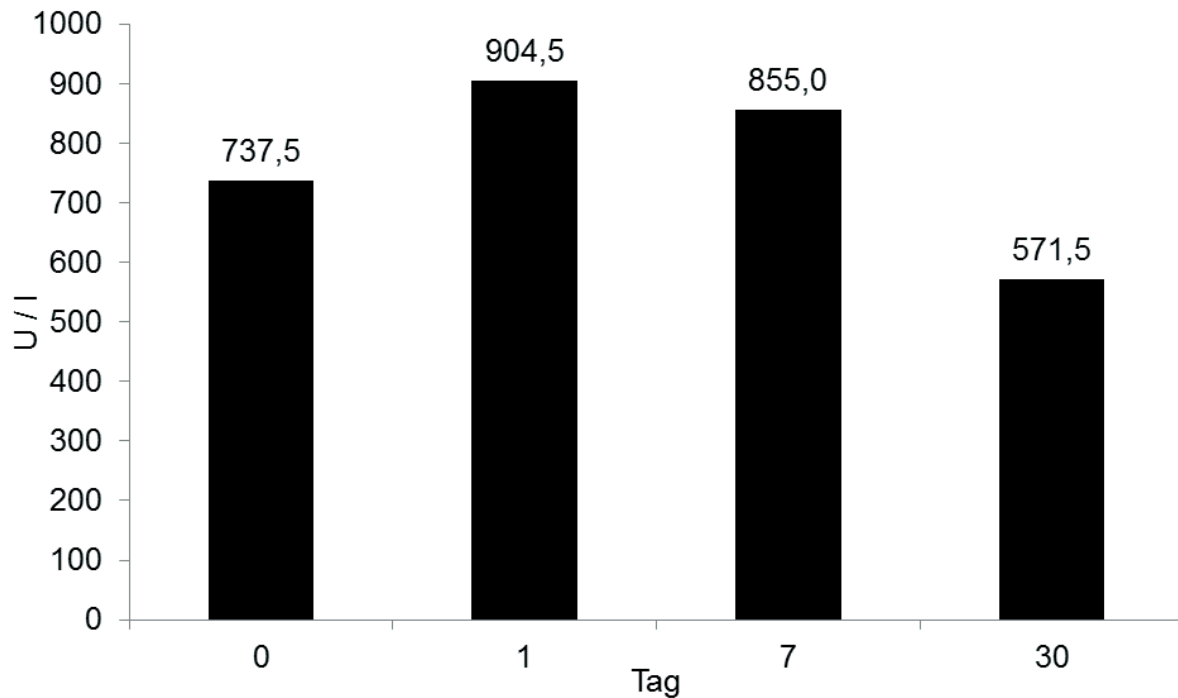


Abbildung 9: Arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) der Aktivität der Sauren Phosphatase zu dem jeweiligen Untersuchungszeitpunkt.

Die Betrachtung der Enzymaktivität der Sauren Phosphatase über den Untersuchungszeitraum erbrachte signifikante Unterschiede ( $p = 0,015$ ).

#### 4.1.1.6 nicht-prostataspezifische Saure Phosphatase

Die Enzymaktivität der nicht-prostataspezifischen Sauren Phosphatase zeigte Unterschiede an den Tagen 0, 1, 7, und 30. Dies ist in Tabelle 16 und in Abbildung 10 dargestellt.

Tabelle 16: Arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) und Standardabweichungen (SD) der Aktivität in der ersten Ejakulatfraktion beim Rüden sowie Minimal- und Maximalwerte der nicht-prostataspezifischen Sauren Phosphatase an den Untersuchungstagen 0, 1, 7 und 30.

Enzymaktivität (U/ l)	Tag	$\bar{x} \pm SD$	Minimalwert	Maximalwert
	0	184,7 $\pm$ 164,7	45,0	450,0
	1	151,4 $\pm$ 138,7	45,0	405,0
	7	189,0 $\pm$ 165,4	45,0	495,0
	30	166,5 $\pm$ 142,4	45,0	405,0

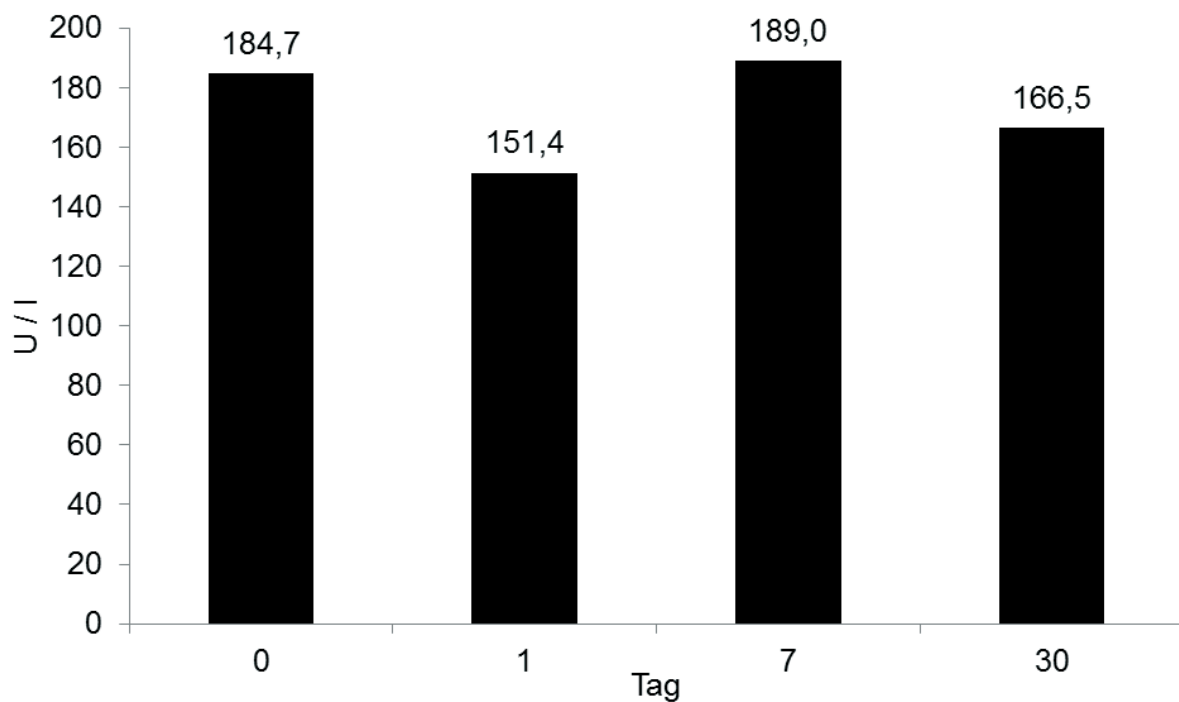


Abbildung 10: Arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) der Aktivität der nicht-prostataspezifischen Sauren Phosphatase zu dem jeweiligen Untersuchungszeitpunkt.

Die Enzymaktivität der nicht-prostataspezifischen Sauren Phosphatase zeigte über den geprüften Zeitintervall statistisch signifikante Unterschiede ( $p = 0,034$ ).

#### 4.1.2 Fraktion 2

##### 4.1.2.1 Alkalische Phosphatase

Die Aktivität der Alkalischen Phosphatase zeigte Unterschiede zu dem ermittelten Untersuchungszeitpunkt. Dies ist in Tabelle 17 und in Abbildung 11 dargestellt.

Tabelle 17: Arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) und Standardabweichungen (SD) der Aktivität in der zweiten Ejakulatfraktion beim Rüden sowie Minimal- und Maximalwerte der Alkalischen Phosphatase an den Untersuchungstagen 0, 1, 7 und 30.

Enzymaktivität (U/l)	Tag	$\bar{x} \pm SD$	Minimalwert	Maximalwert
	0	31408,2 ± 22531,3	31,0	80700,0
	1	28331,3 ± 20317,9	200,0	64300,0
	7	17318,8 ± 12547,8	0,0	43000,0
	30	13318,1 ± 11607,7	0,0	43600,0

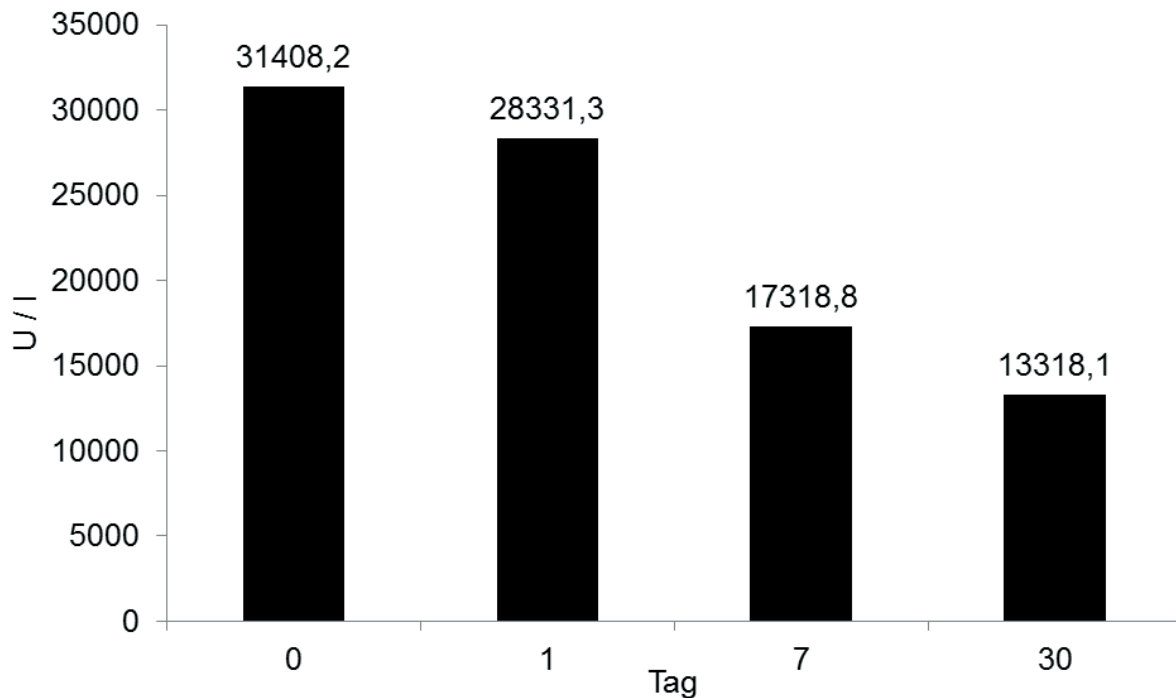


Abbildung 11: Arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) der Aktivität der Alkalischen Phosphatase an den Tagen 0, 1, 7 und 30.

Die Enzymaktivität der Alkalischen Phosphatase (Abbildung 11) zeigte im untersuchten Zeitintervall statistisch einen hochsignifikanten Unterschied ( $p = 0,001$ ).

#### 4.1.2.2 Aspartat-Amino-Transferase

Die Enzymaktivität der Aspartat-Amino-Transferase zeigte Unterschiede an den Tagen 0, 1, 7, und 30. Dies ist in Tabelle 18 und in Abbildung 12 dargestellt.



Tabelle 18: Arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) und Standardabweichungen (SD) der Aktivität in der zweiten Ejakulatfraktion beim Rüden sowie Minimal- und Maximalwerte der Aspartat-Amino-Transferase an den Untersuchungstagen 0, 1, 7 und 30.

Enzymaktivität (U/ l)	Tag	$\bar{x} \pm SD$	Minimalwert	Maximalwert
	0	23,1 $\pm$ 16,7	3,0	60,0
	1	24,3 $\pm$ 18,8	3,0	71,0
	7	18,9 $\pm$ 16,0	2,0	61,0
	30	10,1 $\pm$ 9,6	0,0	32,0

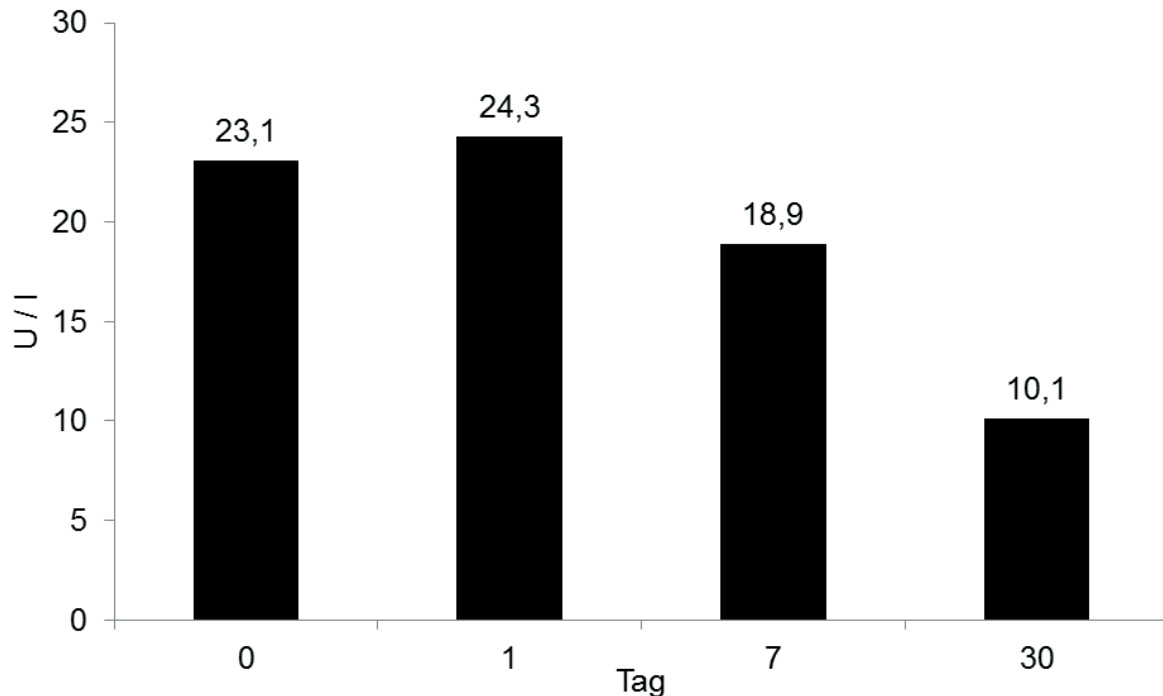


Abbildung 12: Arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) der Aktivität der Aspartat-Amino-Transferase an den Tagen 0, 1, 7 und 30.

Die Aktivität der Aspartat-Amino-Transferase zeigte statistisch hochsignifikante Unterschiede ( $p = 0,001$ ) im untersuchten Zeitraum (Abbildung 12).

### 4.1.2.3 Gamma-Glutamyl-Transferase

Die Enzymaktivität der Gamma-Glutamyl-Transferase zeigte Unterschiede an den Tagen 0, 1, 7, und 30. Dies ist in Tabelle 19 und in Abbildung 13 dargestellt.

Tabelle 19: Arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) und Standardabweichungen (SD) der Aktivität in der zweiten Ejakulatfraktion beim Rüden sowie Minimal- und Maximalwerte der Gamma-Glutamyl-Transferase an den Untersuchungstagen 0, 1, 7 und 30.

<b>Enzymaktivität (U/ l)</b>	<b>Tag</b>	<b><math>\bar{x} \pm SD</math></b>	<b>Minimalwert</b>	<b>Maximalwert</b>
	0	1282,6 $\pm$ 912,6	100,0	3000,0
	1	1058,6 $\pm$ 730,4	0,0	2200,0
	7	901,5 $\pm$ 661,5	6,0	2000,0
	30	959,8 $\pm$ 683,3	4,0	2400,0

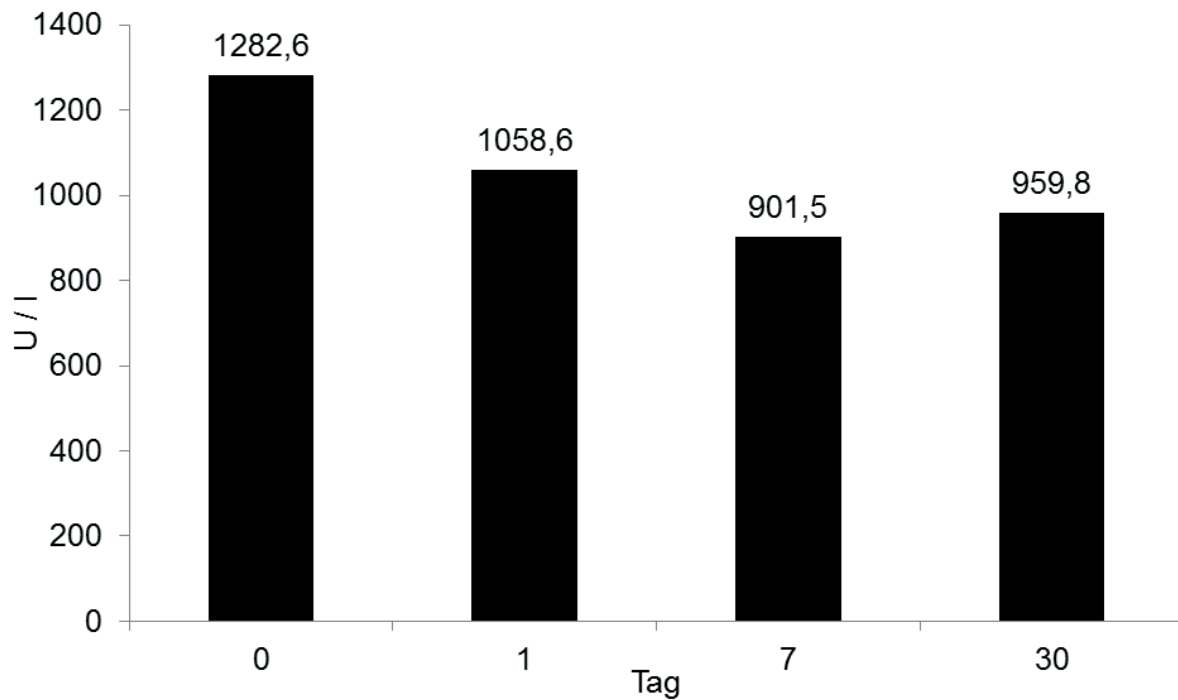


Abbildung 13: Arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) der Aktivität der Gamma-Glutamyl-Transferase an den Tagen 0, 1, 7 und 30.

Zwischen den Untersuchungszeitpunkten (Abbildung 13) zeigten sich statistisch signifikante Unterschiede in der Enzymaktivität ( $p = 0,002$ ).

#### 4.1.2.4 Laktatdehydrogenase

Die Enzymaktivität der Laktatdehydrogenase variierte an den Tagen 0, 1, 7, und 30. Dies ist in der Tabelle 20 und in der Abbildung 14 dargestellt.

Tabelle 20: Arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) und Standardabweichungen (SD) der Aktivität in der zweiten Ejakulatfraktion beim Rüden sowie Minimal- und Maximalwerte der Laktatdehydrogenase an den Untersuchungszeitpunkten 0, 1, 7 und 30.

Enzymaktivität (U/l)	Tag	$\bar{x} \pm SD$	Minimalwert	Maximalwert
	0	54,4 ± 40,5	2,0	131,0
	1	55,2 ± 46,4	2,0	137,0
	7	44,8 ± 49,9	1,0	181,0
	30	27,8 ± 36,0	1,0	111,0

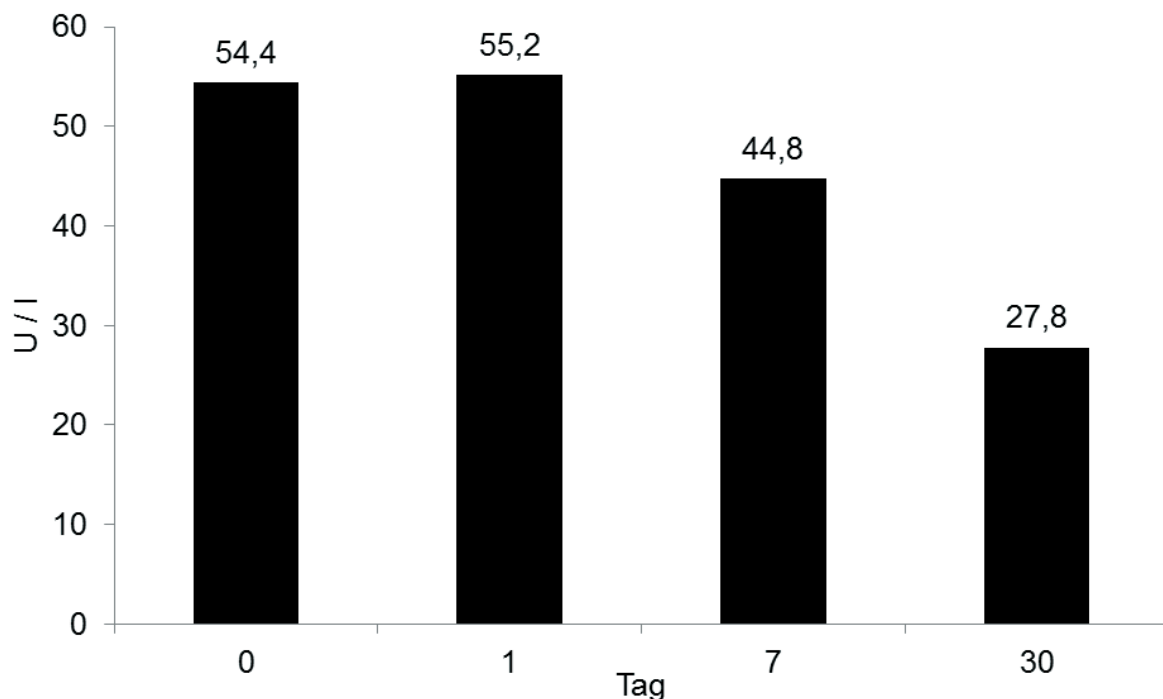


Abbildung 14: Arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) der Aktivität der Laktatdehydrogenase an den Tagen 0, 1, 7 und 30.

Die Enzymaktivität der Laktatdehydrogenase (Abbildung 14) zeigte im untersuchten Zeitintervall statistisch einen hochsignifikanten Unterschied ( $p = 0,001$ ).

## 4.1.2.5 Saure Phosphatase

Die Enzymaktivität der Saure Phosphatase zeigte Unterschiede an den Tagen 0, 1, 7, und 30. Dies ist in Tabelle 21 und in Abbildung 15 dargestellt.

Tabelle 21: Arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) und Standardabweichungen (SD) der Aktivität in der zweiten Ejakulatfraktion beim Rüden sowie Minimal- und Maximalwerte der Sauren Phosphatase an den Untersuchungstagen 0, 1, 7 und 30.

Enzymaktivität (U/ l)	Tag	$\bar{x} \pm SD$	Minimalwert	Maximalwert
	0	1620,0 $\pm$ 873,2	270,0	3330,0
	1	1662,2 $\pm$ 837,6	225,0	3150,0
	7	1386,6 $\pm$ 802,2	270,0	3240,0
	30	1327,5 $\pm$ 862,3	225,0	3150,0

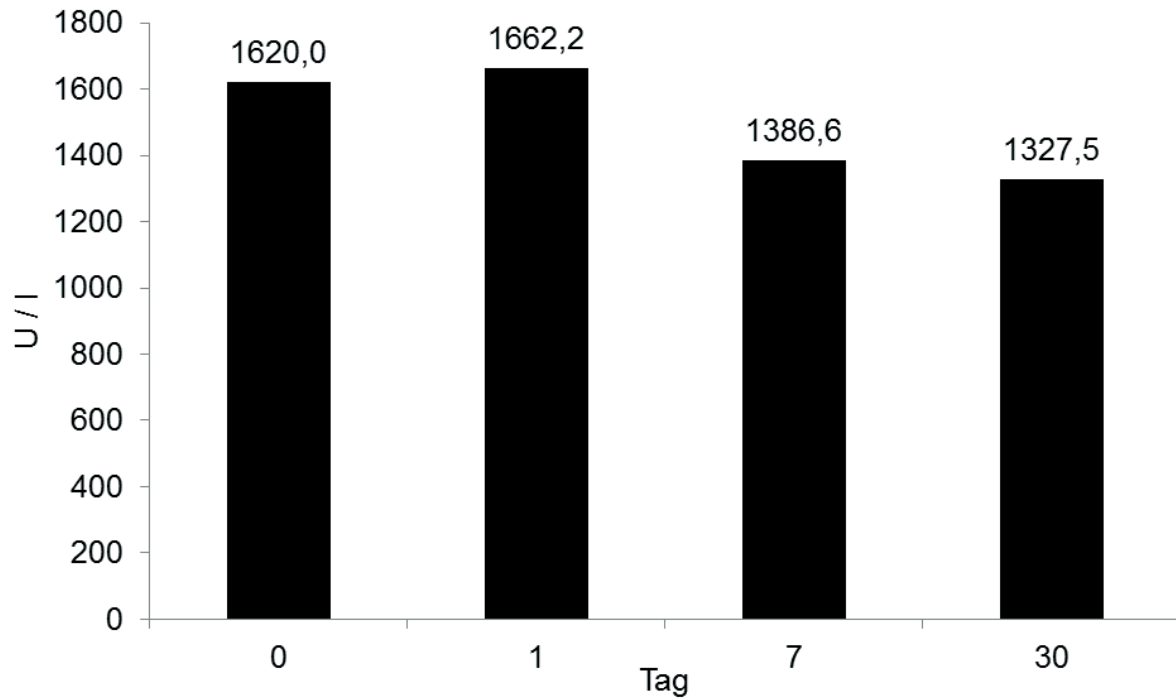


Abbildung 15: Arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) der Aktivität der Sauren Phosphatase an den Tagen 0, 1, 7 und 30.

Zwischen den Untersuchungszeitpunkten zeigten sich statistisch signifikante Unterschiede in der Enzymaktivität ( $p = 0,013$ ).

#### 4.1.2.6 nicht-prostataspezifische Saure Phosphatase

Die Aktivität der nicht-prostataspezifischen Sauren Phosphatase variierte an den Tagen 0, 1, 7, und 30. Dies ist in Tabelle 22 und in Abbildung 16 dargestellt.

Tabelle 22: Arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) und Standardabweichungen (SD) der Aktivität in der zweiten Ejakulatfraktion beim Rüden sowie Minimal- und Maximalwerte der nicht-prostataspezifischen Sauren Phosphatase an den Untersuchungstagen 0, 1, 7 und 30.

Enzymaktivität (U/ l)	Tag	$\bar{x} \pm SD$	Minimalwert	Maximalwert
	0	399,4 $\pm$ 206,5	90,0	810,0
	1	396,6 $\pm$ 209,9	90,0	810,0
	7	427,5 $\pm$ 268,0	90,0	1035,0
	30	421,9 $\pm$ 260,3	90,0	990,0

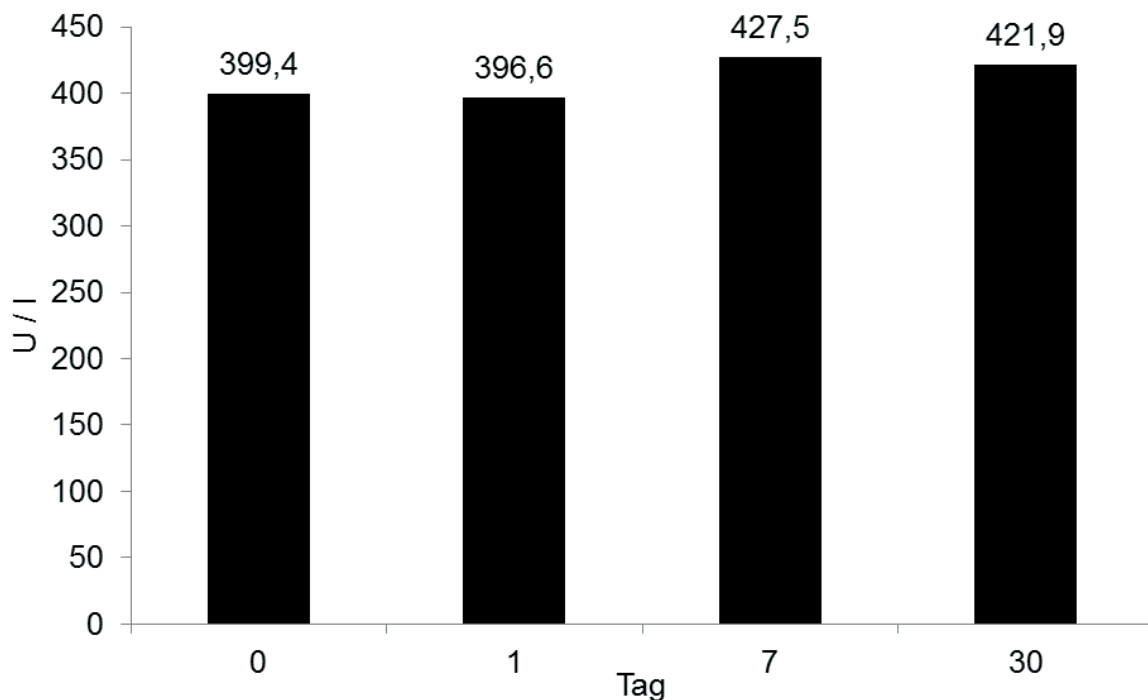


Abbildung 16: Arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) der Aktivität der nicht-prostataspezifischen Sauren Phosphatase an den Tagen 0, 1, 7 und 30.

Statistisch signifikante Unterschiede im Untersuchungszeitraum (Abbildung 16) konnten nicht bewiesen werden ( $p = 0,603$ ).

### 4.1.3 Fraktion 3

#### 4.1.3.1 Alkalische Phosphatase

Die Enzymaktivität der Alkalische Phosphatase zeigte Unterschiede an den Tagen 0, 1, 7, und 30. Dies ist in Tabelle 23 und in Abbildung 17 dargestellt.

Tabelle 23: Arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) und Standardabweichungen (SD) der Aktivität in der dritten Ejakulatfraktion beim Rüden sowie Minimal- und Maximalwerte der Alkalischen Phosphatase an den Untersuchungstagen 0, 1, 7 und 30.

Enzymaktivität (U/ l)	Tag	$\bar{x} \pm SD$	Minimalwert	Maximalwert
	0	7074,6 $\pm$ 22176,7	100,0	87800,0
	1	5919,8 $\pm$ 18345,6	100,0	72700,0
	7	6362,5 $\pm$ 21647,8	100,0	86800,0
	30	5536,1 $\pm$ 19972,0	0	80300,0



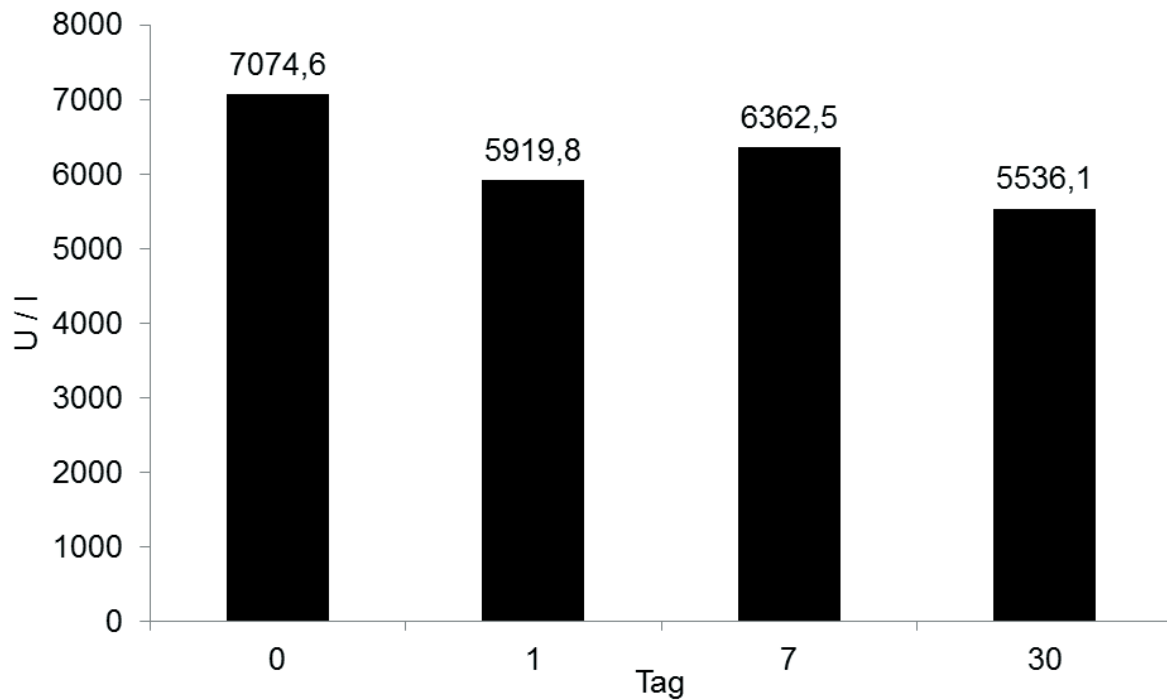


Abbildung 17: Arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) der Aktivität der Alkalischen Phosphatase an den Tagen 0, 1, 7 und 30.

Die Auswertung der Enzymaktivität der Alkalischen Phosphatase dokumentierte über den untersuchten Zeitintervall keinen statistisch signifikanten Unterschied ( $p = 0,345$ ).

#### 4.1.3.2 Aspartat-Amino-Transferase

Die Enzymaktivität der Aspartat-Amino-Transferase zeigte Unterschiede an den Tagen 0, 1, 7, und 30. Dies ist in Tabelle 24 und in Abbildung 18 dargestellt.

Tabelle 24: Arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) und Standardabweichungen (SD) der Aktivität in der dritten Ejakulatfraktion beim Rüden sowie Minimal- und Maximalwerte der Aspartat-Amino-Transferase an den Untersuchungstagen 0, 1, 7 und 30.

Enzymaktivität (U/ l)	Tag	$\bar{x} \pm SD$	Minimalwert	Maximalwert
	0	6,9 $\pm$ 12,5	1,0	39,0
	1	6,3 $\pm$ 11,1	1,0	35,0
	7	3,9 $\pm$ 7,7	1,0	30,0
	30	2,5 $\pm$ 5,4	0,0	22,0

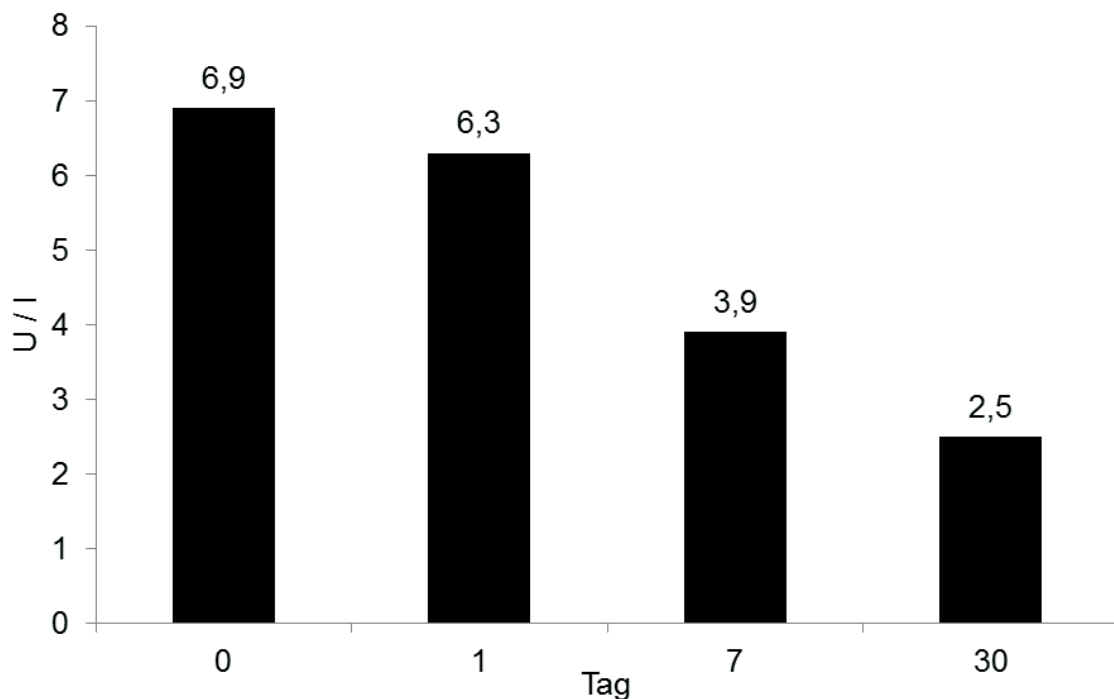


Abbildung 18: Arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) der Aktivität der Aspartat-Amino-Transferase an den Untersuchungstagen 0, 1, 7 und 30.

Die Aktivität der Aspartat-Amino-Transferase zeigte über den Untersuchungsintervall statistisch einen hochsignifikanten Unterschied ( $p = 0,001$ ).

## 4.1.3.3 Gamma-Glutamyl-Transferase

Die Enzymaktivität der Gamma-Glutamyl-Transferase zeigte Unterschiede an den Tagen 0, 1, 7 und 30. Dies ist in Tabelle 25 und in Abbildung 19 dargestellt.

Tabelle 25: Arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) und Standardabweichungen (SD) der Aktivität in der dritten Ejakulatfraktion beim Rüden sowie Minimal- und Maximalwerte der Gamma-Glutamyl-Transferase an den Untersuchungstagen 0, 1, 7 und 30.

Enzymaktivität (U/ l)	Tag	$\bar{x} \pm SD$	Minimalwert	Maximalwert
	0	25,4 $\pm$ 53,9	1,0	200,0
	1	140,5 $\pm$ 487,4	2,0	1900,0
	7	274,6 $\pm$ 1003,4	1,0	3900,0
	30	166,6 $\pm$ 490,6	0,0	1900,0

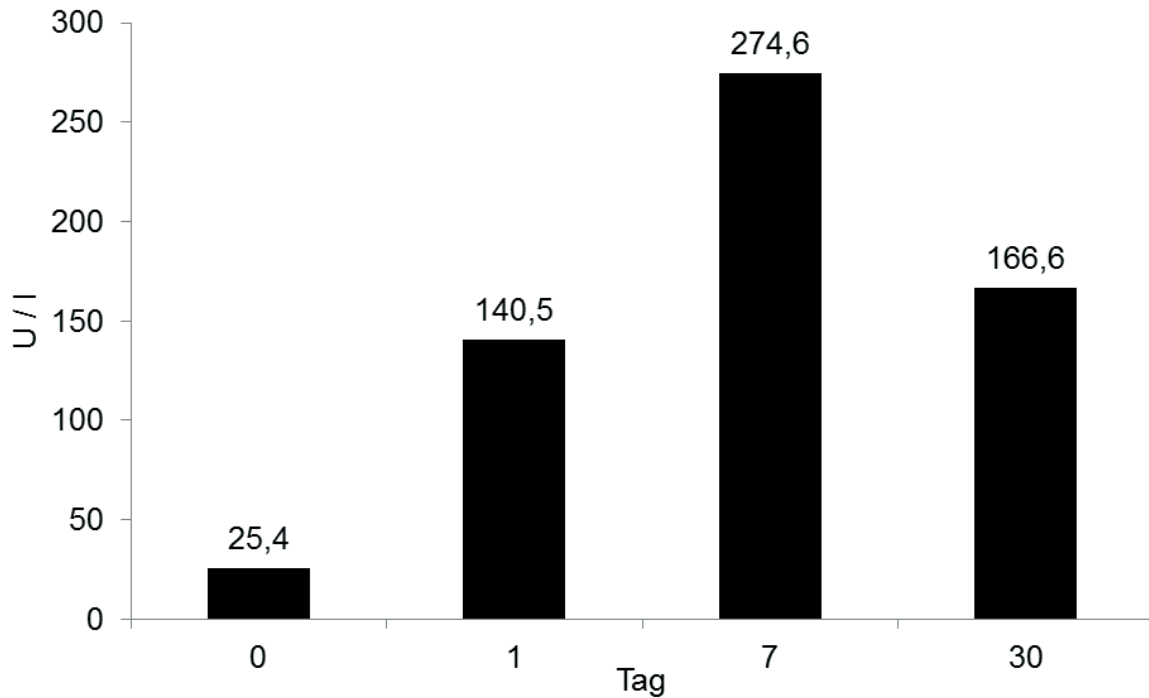


Abbildung 19: Arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) der Aktivität der Gamma-Glutamyl-Transferase an den Tagen 0, 1, 7 und 30.

Statistisch signifikante Unterschiede im untersuchten Zeitraum konnten nicht bewiesen werden ( $p = 0,274$ ).

#### 4.1.3.4 Laktatdehydrogenase

Die Enzymaktivität der Laktatdehydrogenase zeigte Unterschiede an den Tagen 0, 1, 7, und 30. Dies ist in Tabelle 26 und in Abbildung 20 dargestellt.

Tabelle 26: Arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) und Standardabweichungen (SD) der Aktivität in der dritten Ejakulatfraktion beim Rüden sowie Minimal- und Maximalwerte der Laktatdehydrogenase an den Untersuchungstagen 0, 1, 7 und 30.

Enzymaktivität (U/ l)	Tag	$\bar{x} \pm SD$	Minimalwert	Maximalwert
	0	13,0 $\pm$ 37,9	1,0	155,0
	1	12,7 $\pm$ 37,8	1,0	154,0
	7	9,5 $\pm$ 28,1	0,0	115,0
	30	7,6 $\pm$ 24,4	0,0	99,0

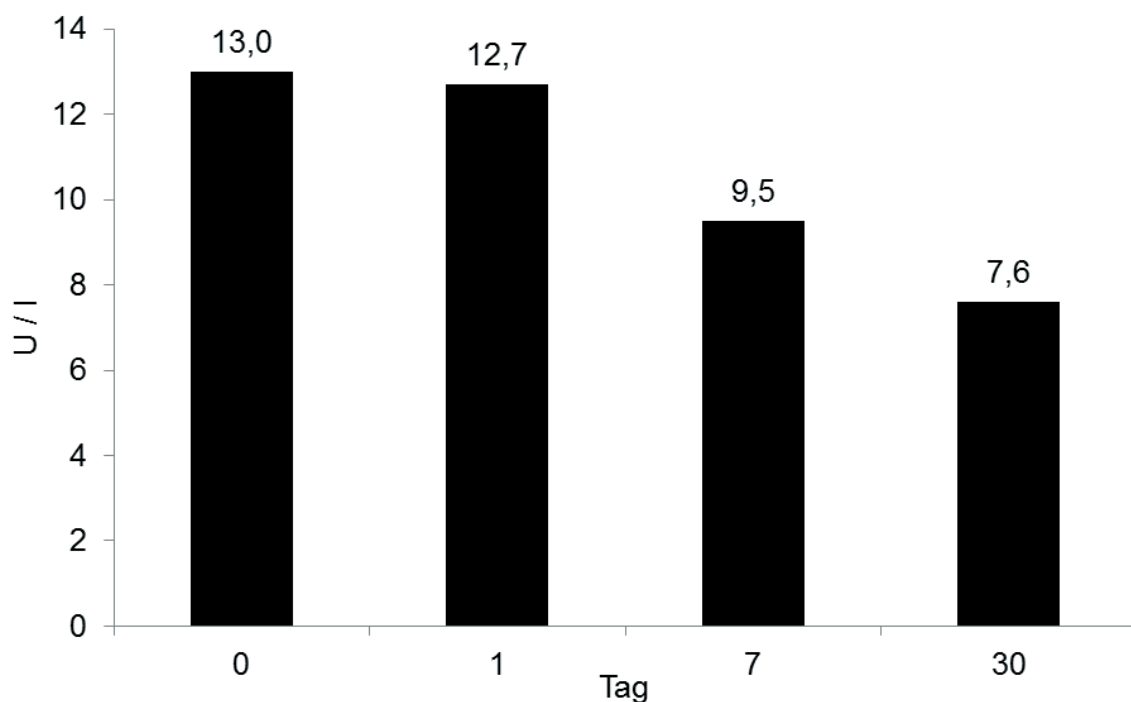


Abbildung 20: Arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) der Aktivität der Laktatdehydrogenase an den Tagen 0, 1, 7 und 30.

Die Aktivität der Laktatdehydrogenase zeigte über den Untersuchungsintervall statistisch einen hochsignifikanten Unterschied ( $p = 0,001$ ).

4.1.3.5 Saure Phosphatase

Die Enzymaktivität der Sauren Phosphatase zeigte Unterschiede an den Tagen 0, 1, 7, und 30. Dies ist in Tabelle 27 und in Abbildung 21 dargestellt.

Tabelle 27: Arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) und Standardabweichungen (SD) der Aktivität in der dritten Ejakulatfraktion beim Rüden sowie Minimal- und Maximalwerte der Sauren Phosphatase an den Untersuchungstagen 0, 1, 7 und 30.

Enzymaktivität (U/ l)	Tag	$\bar{x} \pm SD$	Minimalwert	Maximalwert
	0	1478,5 $\pm$ 916,5	360,0	3510,0
	1	1456,9 $\pm$ 925,0	540,0	3420,0
	7	1437,2 $\pm$ 877,1	360,0	3330,0
	30	1164,4 $\pm$ 873,8	90,0	3015,0

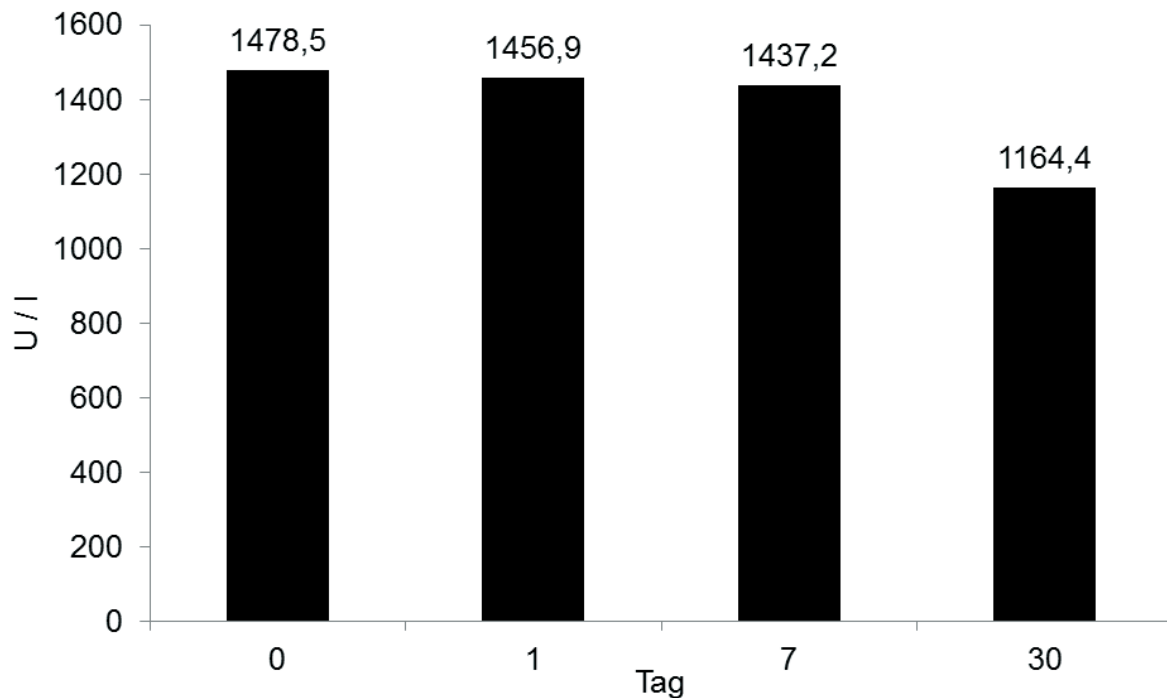


Abbildung 21: Arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) der Aktivität der Sauren Phosphatase an den Tagen 0, 1, 7 und 30.

Zwischen den Untersuchungszeitpunkten zeigten sich statistisch signifikante Unterschiede in der Enzymaktivität der Sauren Phosphatase ( $p = 0,018$ ).

#### 4.1.3.6 nicht-prostataspezifische Saure Phosphatase

Die Enzymaktivität der nicht-prostataspezifischen Sauren Phosphatase zeigte Unterschiede an den Tagen 0, 1, 7, und 30. Dies ist in Tabelle 28 und in Abbildung 22 dargestellt.

Tabelle 28: Arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) und Standardabweichungen (SD) der Aktivität in der dritten Ejakulatfraktion beim Rüden sowie Minimal- und Maximalwerte der nicht-prostataspezifischen Sauren Phosphatase an den Untersuchungstagen 0, 1, 7 und 30.

Enzymaktivität (U/ l)	Tag	$\bar{x} \pm SD$	Minimalwert	Maximalwert
	0	405,0 $\pm$ 270,5	90,0	945,0
	1	371,0 $\pm$ 234,2	86,0	855,0
	7	478,1 $\pm$ 530,3	90,0	2205,0
	30	360,00 $\pm$ 220,5	90,0	810,0

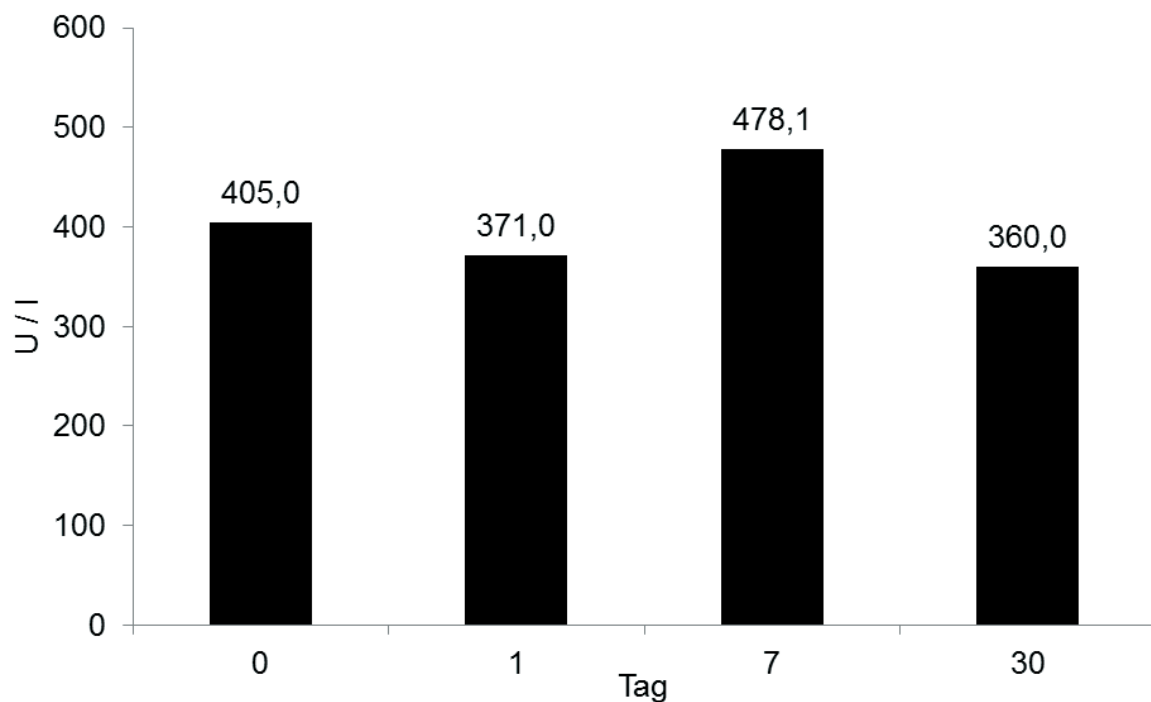


Abbildung 22: Arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) der Aktivität der nicht-prostataspezifischen Sauren Phosphatase an den Tagen 0, 1, 7 und 30.

Die Auswertung der Aktivität der nicht-prostataspezifischen Sauren Phosphatase erbrachte keine statistisch signifikanten Unterschiede ( $p = 0,330$ ).



## 4.2 Hauptversuch

Die im Seminalplasma gemessenen Werte wurden im ersten Schritt gesamt dargestellt und dann den Gruppen Normospermie (20 Ejakulate) und Pathospermie (30 Ejakulate) zugeordnet. Anschließend wurde überprüft ob statistisch signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen vorliegen.

Die statistische Auswertung erfolgte getrennt nach den einzelnen drei Ejakulatfraktionen.

### 4.2.1 Fraktion 1

#### 4.2.1.1 Enzyme

Die Enzymaktivitäten im Seminalplasma sind in der Tabelle 29 und in den Abbildungen 23 - 25 zusammengefasst.

Tabelle 29: Arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) mit Standardabweichungen (SD) sowie Minimal- und Maximalwerte der Enzymaktivität im Seminalplasma von Rüden in der 1. Fraktion, wobei nicht zwischen Ejakulaten mit Normospermie und Pathospermie unterschieden wurde.

<b>Enzymaktivität (U/ l)</b>	<b><math>\bar{x} \pm SD</math></b>	<b>Minimalwert</b>	<b>Maximalwert</b>
Alkalische Phosphatase	3369,2 ± 5471,8	19,0	25500,0
Saure Phosphatase	700,4 ± 602,6	90,0	2745,0
nicht-prostataspezifische Saure Phosphatase	198,6 ± 205,5	0,0	1035,0
Aspartat-Amino-Transferase	1,6 ± 3,2	0,0	19,0
Gamma-Glutamyl- Transferase	163,0 ± 476,9	0,0	2800,0
Laktatdehydrogenase	1,5 ± 2,1	0,0	11,4

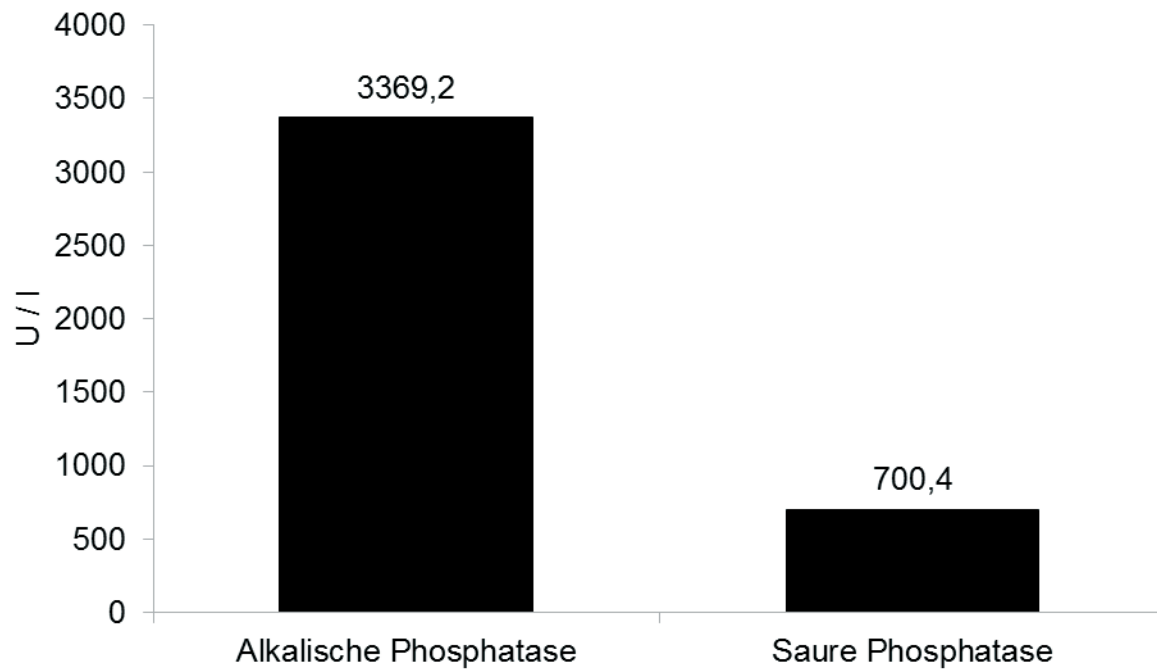


Abbildung 23: Enzymaktivität der Alkalischen und Sauren Phosphatase in Fraktion 1. Dargestellt sind jeweils die arithmetischen Mittelwerte.

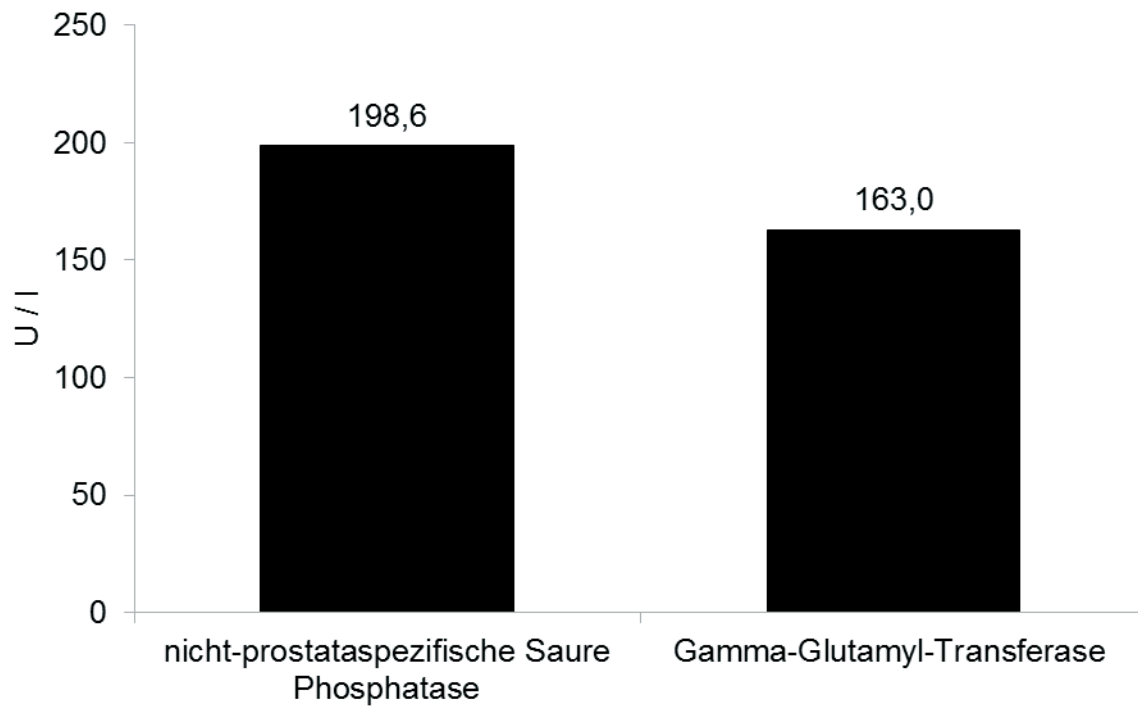


Abbildung 24: Enzymaktivität der nicht-prostata-spezifischen Sauren Phosphatase und Gamma-Glutamyl-Transferase in Fraktion 1. Dargestellt sind jeweils die arithmetischen Mittelwerte.



Abbildung 25: Enzymaktivität der Aspartat-Amino-Transferase und Laktatdehydrogenase in Fraktion 1. Dargestellt sind jeweils die arithmetischen Mittelwerte.

Die statistische Auswertung der Enzymaktivität in der 1. Fraktion, erbrachte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen Normo- und Pathospermie. In Tabelle 30 sind die arithmetischen Mittelwerte mit statistischer Signifikanz im direkten Vergleich der Gruppen zusammengefasst.

Tabelle 30: Vergleichende Darstellung der arithmetischen Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) mit Standardabweichungen (SD) der Aktivität der Seminalplasmaenzyme in Ejakulaten mit Normospermie (Gruppe 1) und Pathospermie (Gruppe 2) in der 1. Fraktion. n. s. = nicht signifikant.

<b>Enzymaktivität (U/l)</b>	<b>Normospermie <math>\bar{x} \pm SD</math></b>	<b>Pathospermie <math>\bar{x} \pm SD</math></b>	<b>p</b>
Alkalische Phosphatase	1981,3 ± 3204,0	4146,4 ± 6331,9	n. s.
Saure Phosphatase	575,4 ± 516,2	770,5 ± 645,3	n. s.
nicht-prostataspezifische Saure Phosphatase	209,0 ± 270,9	192,8 ± 164,4	n. s.
Aspartat-Amino-Transferase	2,4 ± 4,9	1,1 ± 1,8	n. s.
Gamma-Glutamyl-Transferase	40,1 ± 37,6	231,8 ± 587,9	n. s.
Laktatdehydrogenase	2,0 ± 3,1	1,1 ± 1,1	n. s.

#### 4.2.1.2 Mengen- und Spurenelemente

Die Konzentrationen der Mengen- und Spurenelemente sind in Tabelle 31 und in den Abbildungen 26 - 28 zusammengefasst.

Tabelle 31: Arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) mit Standardabweichungen (SD) sowie Minimal- und Maximalwerte der Mengen- und Spurenelemente im Seminalplasma von Rüden in der 1. Fraktion, wobei nicht zwischen Ejakulaten mit Normospermie und Pathospermie unterschieden wurde.

<b>Konzentration</b>	<b><math>\bar{x} \pm SD</math></b>	<b>Minimalwert</b>	<b>Maximalwert</b>
Zink ( $\mu\text{mol} / \text{l}$ )	114,8 $\pm$ 52,3	12,4	178,9
Kupfer ( $\mu\text{mol} / \text{l}$ )	28,2 $\pm$ 17,5	0,0	50,9
Eisen ( $\mu\text{mol} / \text{l}$ )	0,4 $\pm$ 2,2	0,0	13,7
Natrium (mmol/ l)	144,5 $\pm$ 25,6	0,0	171,5
Kalium (mmol/ l)	7,2 $\pm$ 3,0	0,0	16,5
Calcium (mmol/ l)	0,2 $\pm$ 0,2	0,0	0,9
Magnesium (mmol/ l)	1,3 $\pm$ 0,7	0,0	3,2
Phosphat (mmol/ l)	0,5 $\pm$ 0,5	0,0	2,3

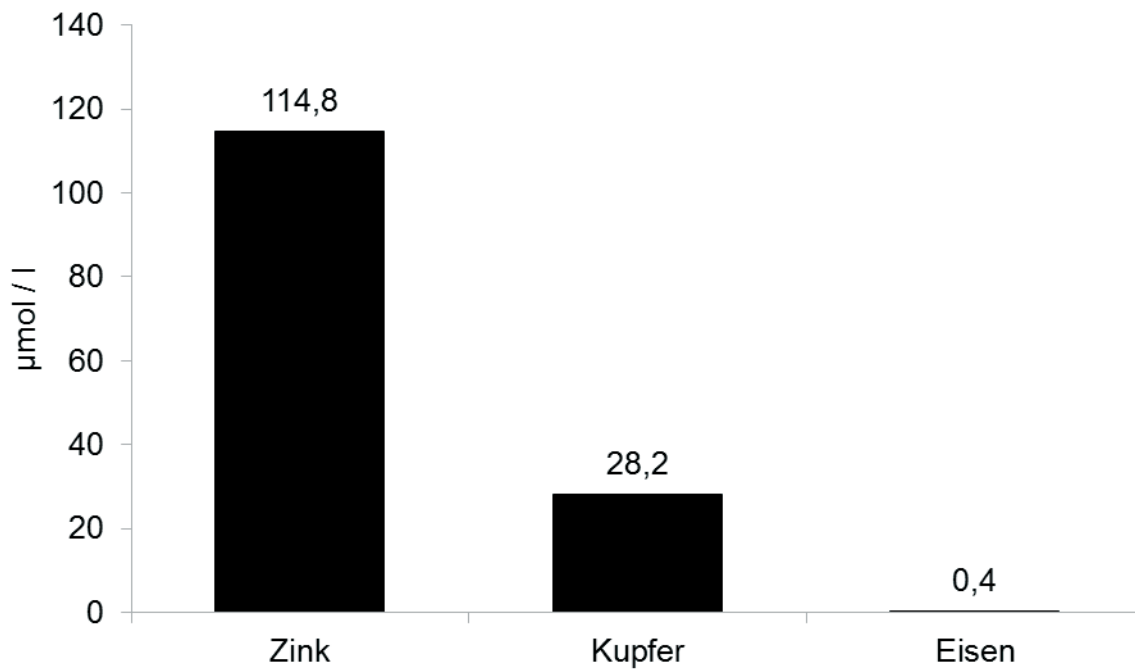


Abbildung 26: Arithmetische Mittelwerte der Zink-, Kupfer-, Eisenkonzentration in Fraktion 1.

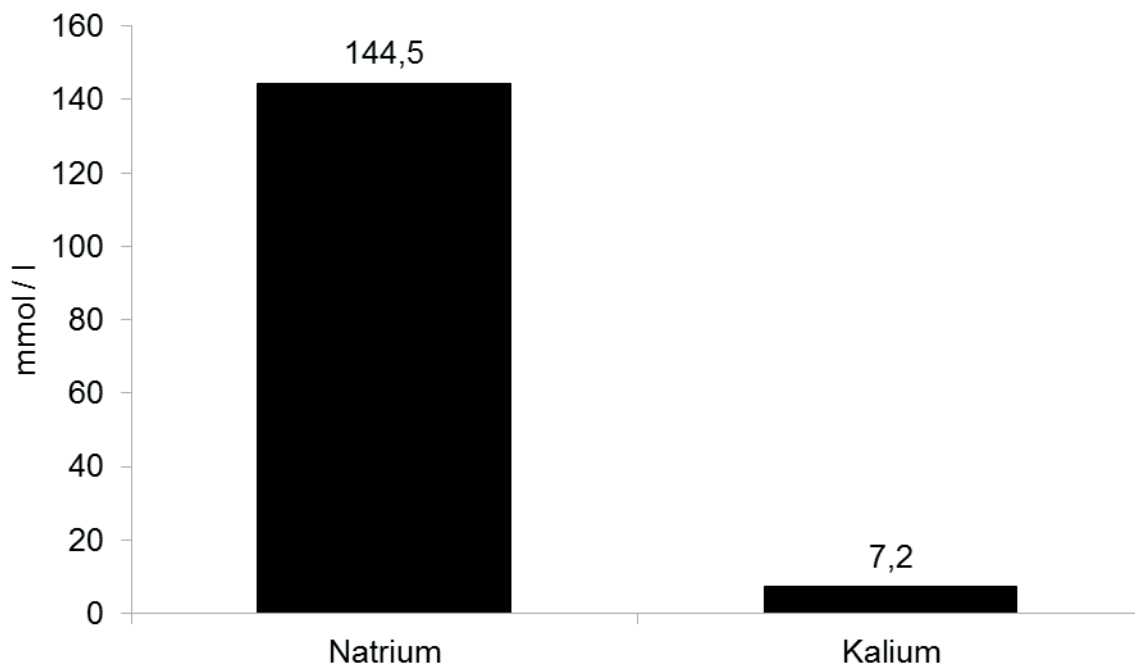


Abbildung 27: Arithmetische Mittelwerte der Natrium- und Kaliumkonzentration in Fraktion 1.



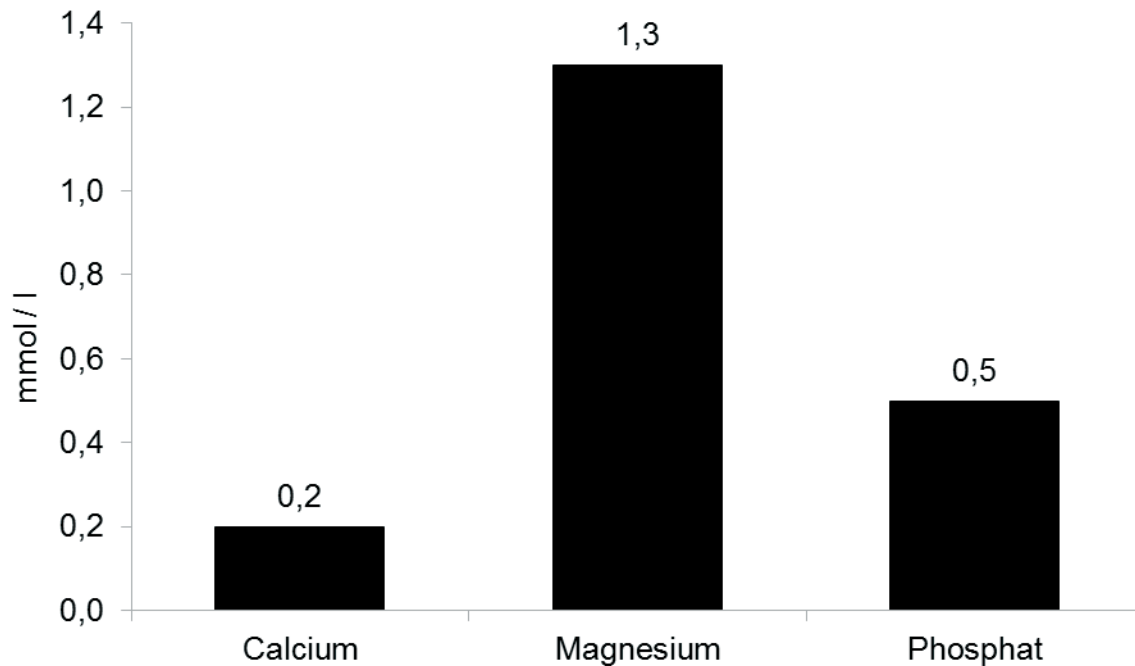


Abbildung 28: Arithmetische Mittelwerte der Gesamtcalcium-, Magnesium- und Phosphatkonzentration in Fraktion 1.

Die Gesamtcalciumkonzentration zwischen der Gruppe 1 und 2 erbrachte einen statistisch signifikanten Unterschied ( $p = 0,036$ ). Eine Tendenz ( $p = 0,057$ ) zu statistisch signifikanten Unterschieden konnte hinsichtlich der Magnesiumkonzentration verzeichnet werden. Eine vergleichende tabellarische Darstellung der Gruppen 1 - 2 in Bezug auf Mittelwert und statistischer Signifikanz ist in der Tabelle 32 zusammengefasst.

Tabelle 32: Vergleichende Darstellung der arithmetischen Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) mit Standardabweichungen (SD) der Aktivität der Mengen- und Spurenelemente in Ejakulaten mit Normospermie (Gruppe 1) und Pathospermie (Gruppe 2) in der 1. Fraktion. n. s. = nicht signifikant

<b>Konzentrationen</b>	<b>Normospermie</b> $\bar{x} \pm SD$	<b>Pathospermie</b> $\bar{x} \pm SD$	<b>p</b>
Zink ( $\mu\text{mol} / \text{l}$ )	116,6 $\pm$ 58,4	113,8 $\pm$ 49,9	n. s.
Kupfer ( $\mu\text{mol} / \text{l}$ )	27,6 $\pm$ 18,2	28,6 $\pm$ 17,5	n. s.
Eisen ( $\mu\text{mol} / \text{l}$ )	1,0 $\pm$ 3,7	0,1 $\pm$ 0,2	n. s.
Natrium (mmol/l)	151,3 $\pm$ 8,5	140,6 $\pm$ 30,9	n. s.
Kalium (mmol/l)	7,1 $\pm$ 2,0	7,2 $\pm$ 3,4	n. s.
Calcium (mmol/l)	0,3 $\pm$ 0,3	0,2 $\pm$ 0,2	0,036
Magnesium (mmol/l)	1,1 $\pm$ 0,6	1,4 $\pm$ 0,7	n. s.
Phosphat (mmol/l)	0,7 $\pm$ 0,6	0,4 $\pm$ 0,4	n. s.

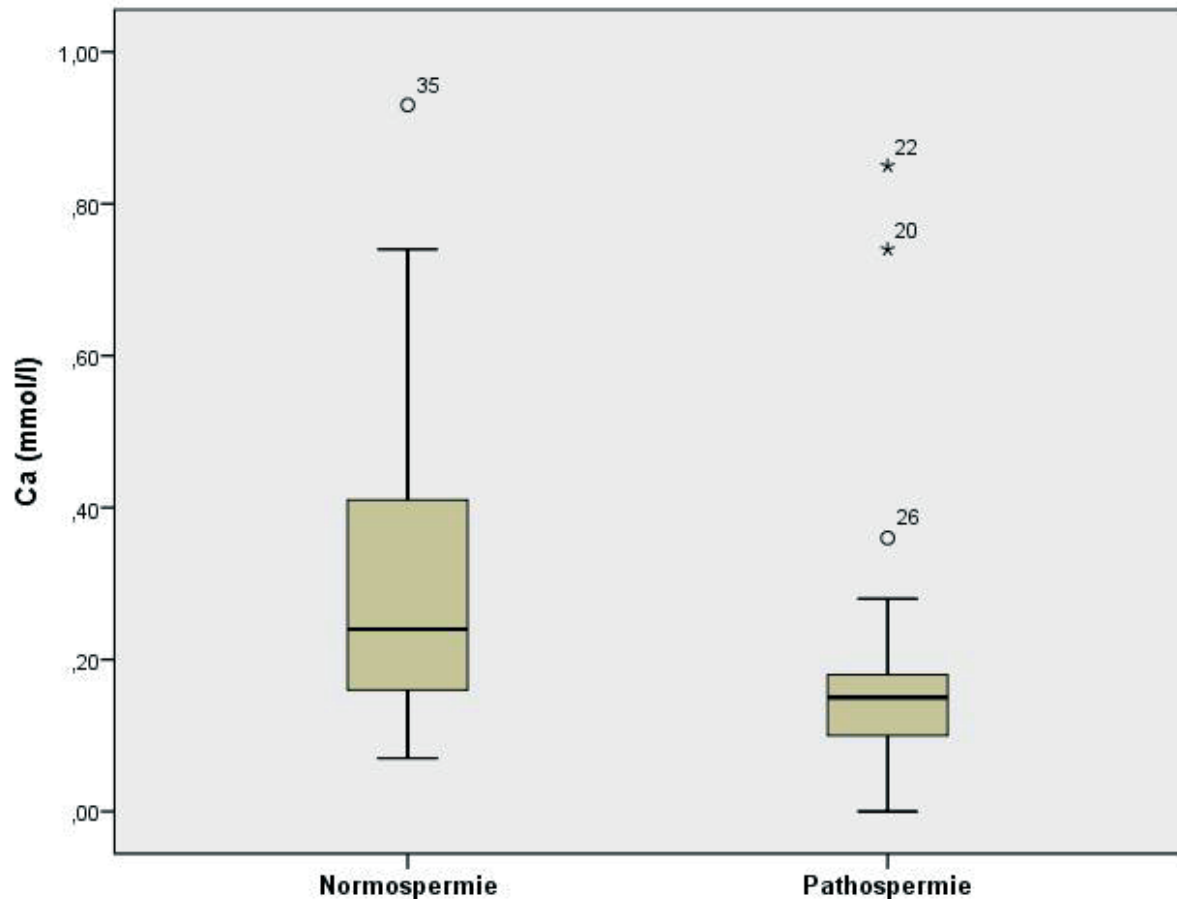


Abbildung 29: Vergleichende Boxplot-Darstellung des Gesamtcalciumgehaltes in Fraktion 1. Es existieren statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen Normo- und Pathospermie.

°; \* = Ausreißer

Abbildung 29 veranschaulicht die Gesamtcalciumkonzentration (mmol/l) im Seminalplasma im direkten Vergleich der Gruppen 1 und 2. Die Boxenhöhe der Gruppe 1 ist größer als bei Gruppe 2. Daraus erschließt sich, dass bei Gruppe 2 die mittleren 50 Prozent der Messungen enger um den Medianwert liegen als bei Gruppe 1. In Gruppe 1 wurden höhere Maximalwerte gemessen als bei Gruppe 2. Die minimalen Messwerte lagen im Vergleich zu Gruppe 2 im niedrigeren Bereich.

#### 4.2.2 Fraktion 2

##### 4.2.2.1 Enzyme

Die Enzymaktivitäten im Seminalplasma der 2. Fraktion zeigten Unterschiede zwischen den einzelnen Ejakulaten. Dies ist in Tabelle 33 und in den Abbildungen 30 - 32 aufgeführt.

Tabelle 33: Arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) mit Standardabweichungen (SD) sowie Minimal- und Maximalwerte der Enzymaktivität im Seminalplasma von Rüden in der 2. Fraktion, wobei nicht zwischen Ejakulaten mit Normospermie und Pathospermie unterschieden wurde.

<b>Enzymaktivität (U/ l)</b>	<b><math>\bar{x} \pm SD</math></b>	<b>Minimalwert</b>	<b>Maximalwert</b>
Alkalische Phosphatase	58402,0 ± 40832,3	800,0	198200,0
Saure Phosphatase	1548,4 ± 1202,2	109,4	4860,0
nicht-prostataspezifische Saure Phosphatase	372,3 ± 282,9	45,0	1260,0
Aspartat-Amino-Transferase	4,8 ± 9,3	0,0	61,0
Gamma-Glutamyl-Transferase	1317,8 ± 1356,2	1,0	5900,0
Laktatdehydrogenase	16,0 ± 43,3	0,0	256,9

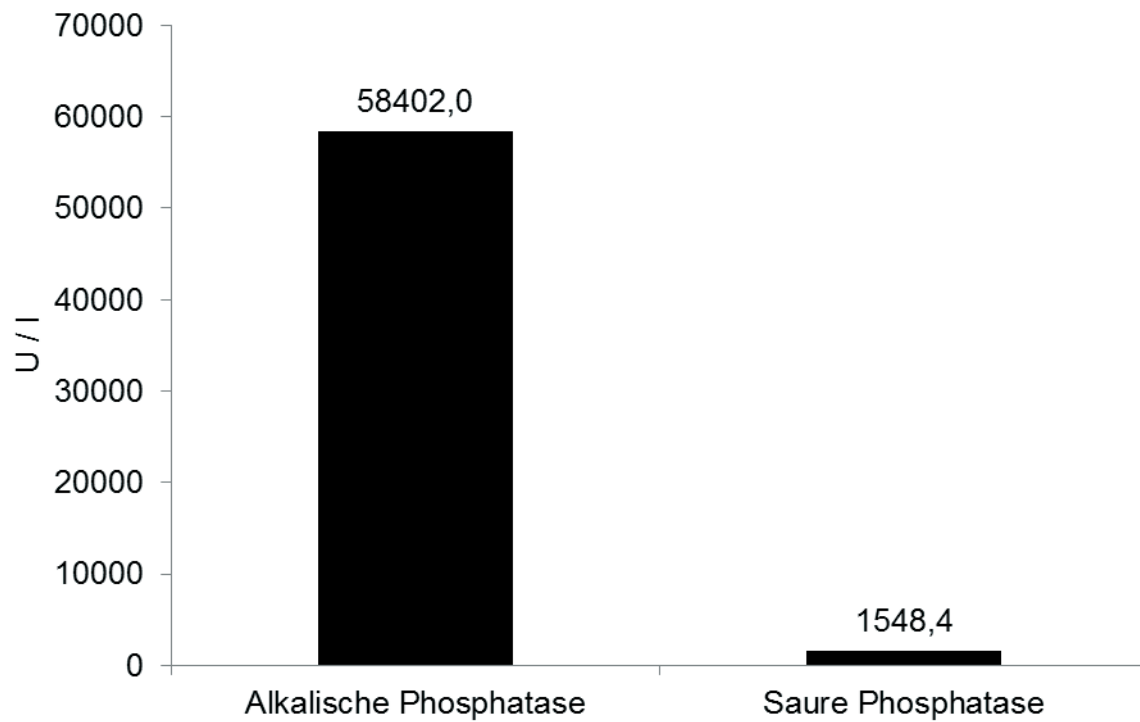


Abbildung 30: Enzymaktivität der Alkalischen und Sauren Phosphatase in Fraktion 2. Dargestellt sind jeweils die arithmetischen Mittelwerte.

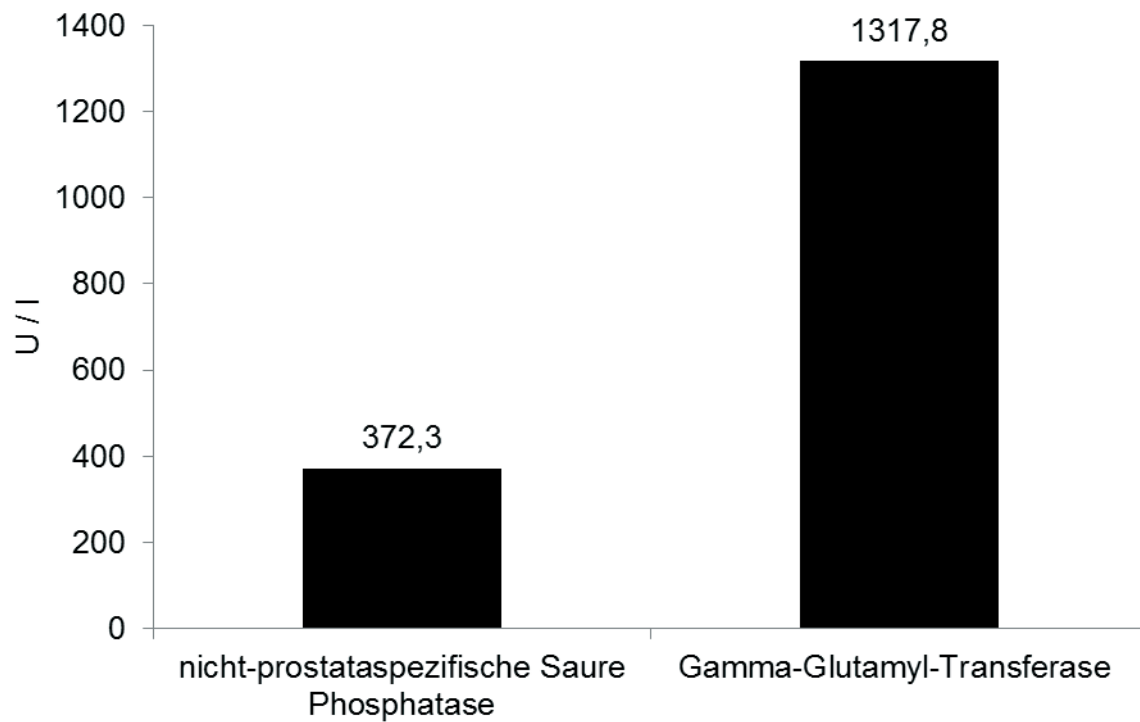


Abbildung 31: Enzymaktivität der nicht-prostataspezifischen Sauren Phosphatase und Gamma-Glutamyl-Transferase in Fraktion 2. Dargestellt sind jeweils die arithmetischen Mittelwerte.

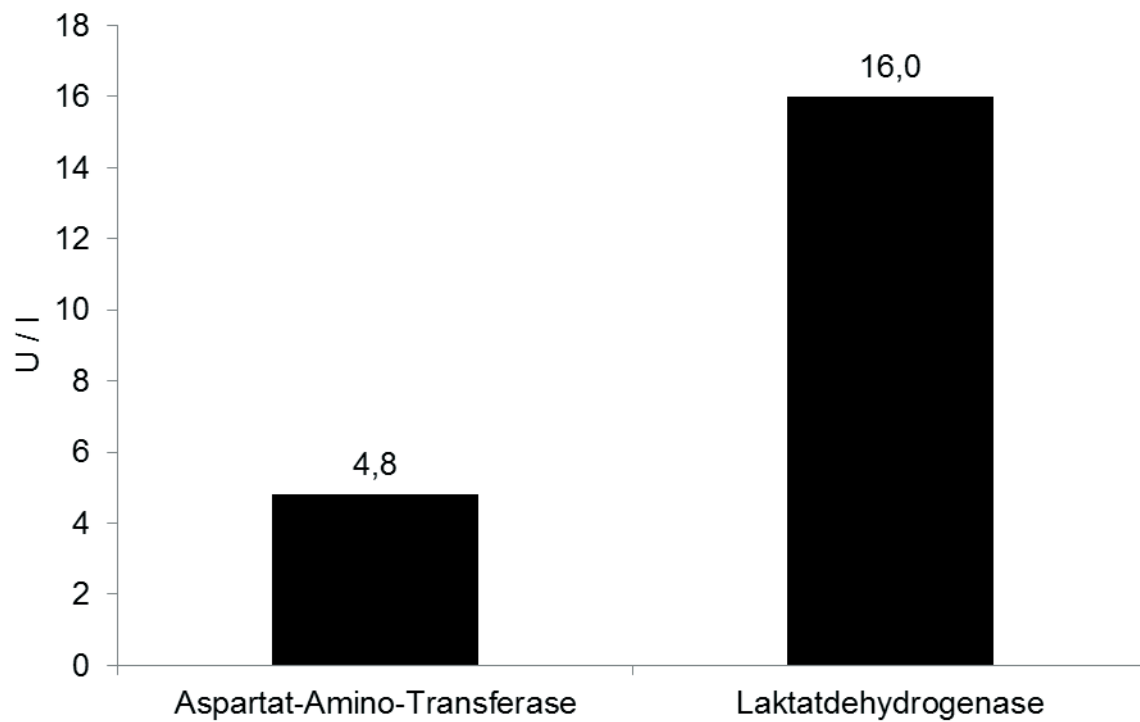


Abbildung 32: Enzymaktivität der Aspartat-Amino-Transferase und Laktatdehydrogenase in Fraktion 2. Dargestellt sind jeweils die arithmetischen Mittelwerte.

Die Auswertungen der Enzymaktivitäten erbrachten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen 1 - 2 (Tabelle 34).

Tabelle 34: Vergleichende Darstellung der arithmetischen Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) mit Standardabweichungen (SD) der Aktivität der Seminalplasmaenzyme in Ejakulaten mit Normospermie (Gruppe 1) und Pathospermie (Gruppe 2) in der 2. Fraktion. n. s. = nicht signifikant

<b>Enzymaktivität (U/l)</b>	<b>Normospermie <math>\bar{x} \pm SD</math></b>	<b>Pathospermie <math>\bar{x} \pm SD</math></b>	<b>P</b>
Alkalische Phosphatase	48505,0 ± 30794,6	65000,0 ± 45642,4	n. s.
Saure Phosphatase	1608,8 ± 1293,1	1508,1 ± 1158,5	n. s.
nicht-prostataspezifische Saure Phosphatase	389,2 ± 305,7	361,0 ± 271,4	n. s.
Aspartat-Amino-Transferase	3,5 ± 4,0	5,7 ± 11,6	n. s.
Gamma-Glutamyl-Transferase	1238,1 ± 1218,1	1370,9 ± 1458,9	n. s.
Laktatdehydrogenase	10,1 ± 12,7	20,0 ± 55,0	n. s.



## 4.2.2.2 Mengen- und Spurenelemente

Die Konzentrationen der Mengen- und Spurenelemente im Seminalplasma der 2. Fraktion dokumentierten Unterschiede in den einzelnen Ejakulaten. In der Tabelle 35 und in den Abbildungen 33 - 35 ist dies zusammenfassend dargestellt.

Tabelle 35: Arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) mit Standardabweichungen (SD) sowie Minimal- und Maximalwerte der Mengen- und Spurenelemente im Seminalplasma von Rüden in der 2. Fraktion, wobei nicht zwischen Ejakulaten mit Normospermie und Pathospermie unterschieden wurde.

Konzentrationen	$\bar{x} \pm SD$	Minimalwert	Maximalwert
Zink ( $\mu\text{mol} / \text{l}$ )	150,3 $\pm$ 20,6	57,3	182,8
Kupfer ( $\mu\text{mol} / \text{l}$ )	41,5 $\pm$ 12,2	6,6	63,3
Eisen ( $\mu\text{mol} / \text{l}$ )	0,4 $\pm$ 2,2	0,0	15,4
Natrium (mmol/l)	136,0 $\pm$ 15,4	106,4	192,6
Kalium (mmol/l)	11,9 $\pm$ 3,3	6,4	17,5
Calcium (mmol/l)	0,5 $\pm$ 0,8	0,1	4,4
Magnesium (mmol/l)	2,0 $\pm$ 0,8	0,7	3,6
Phosphat (mmol/l)	1,0 $\pm$ 1,1	0,2	6,3

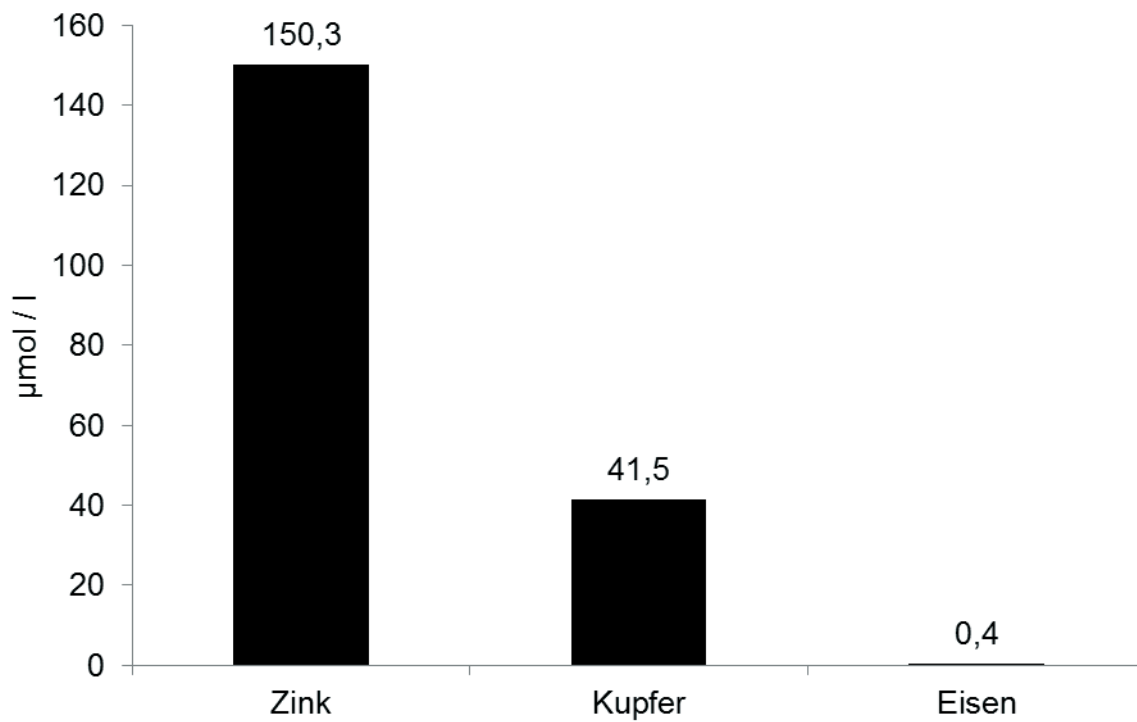


Abbildung 33: Arithmetische Mittelwerte der Zink-, Kupfer- und Eisenkonzentration in Fraktion 2.

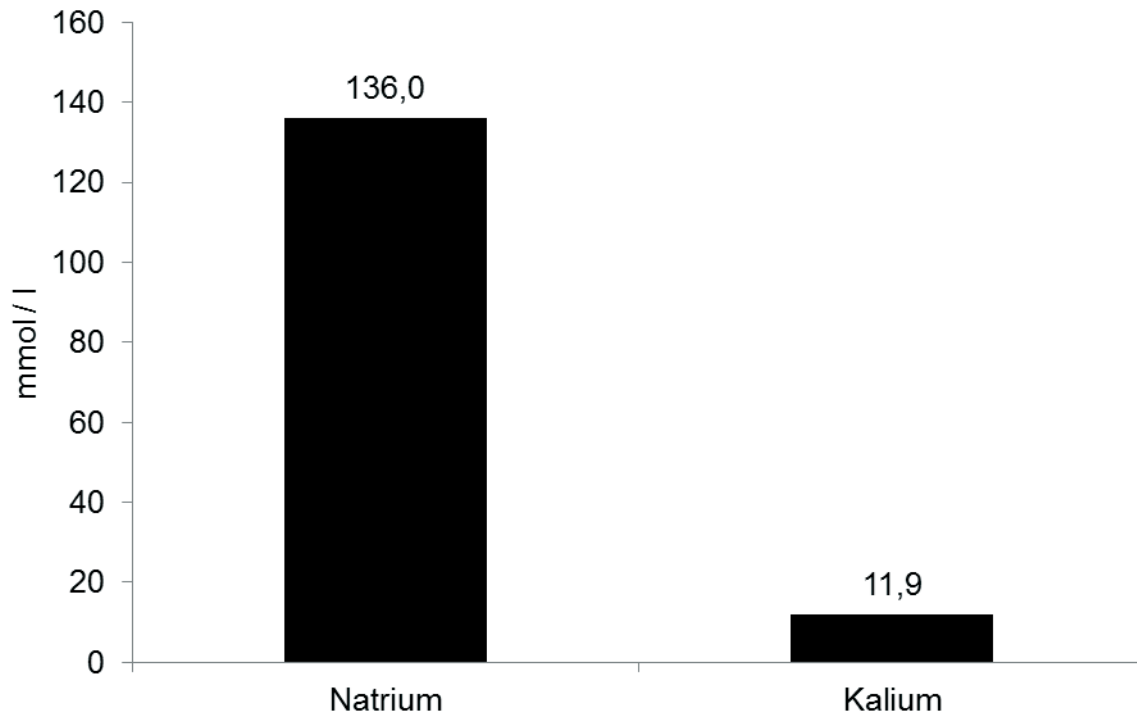


Abbildung 34: Arithmetische Mittelwerte der Natrium- und Kaliumkonzentration in der Fraktion 2.

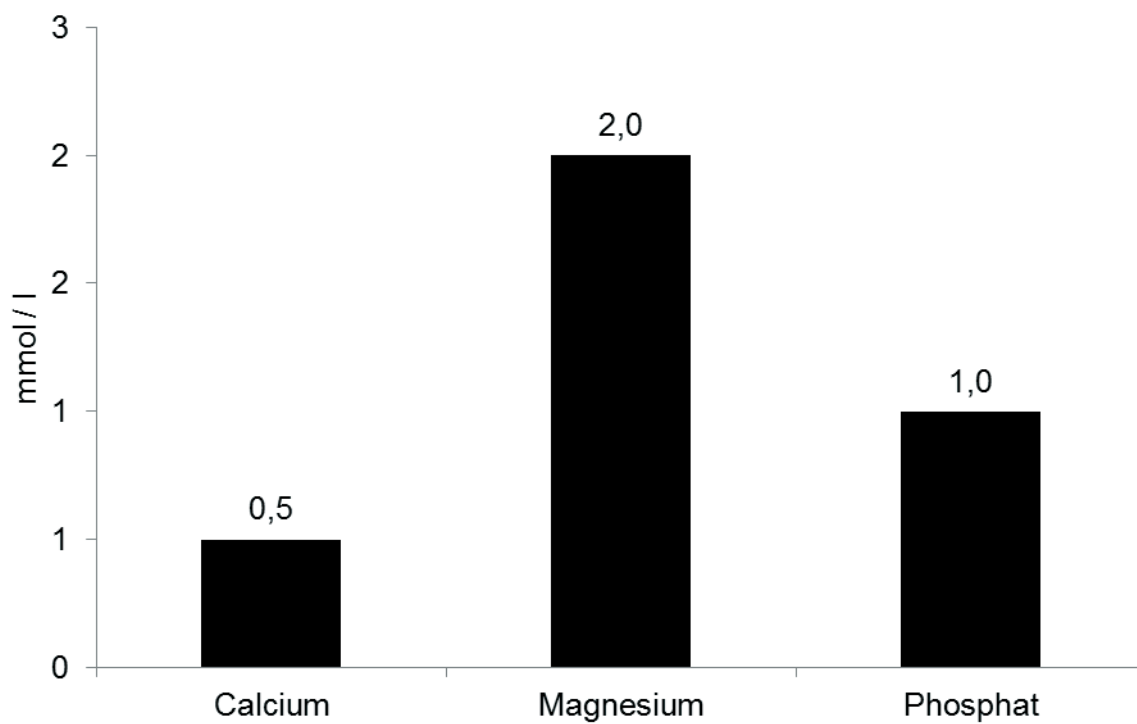


Abbildung 35: Arithmetische Mittelwerte der Calcium-, Magnesium- und Phosphatkonzentration in der Fraktion 2.

Im Gruppenvergleich konnten statistisch hochsignifikante Unterschiede ( $p = 0,001$ ) in der Kupferkonzentration gezeigt werden. Dies ist in Abbildung 36 dargestellt.

Die weitere Betrachtung der Mengen- und Spurenelementkonzentrationen zwischen den jeweiligen Gruppen ergaben keine statistisch signifikanten Unterschiede.

Eine vergleichende Darstellung der arithmetischen Mittelwerte der Gruppen 1 - 2 und die statistische Signifikanz sind in Tabelle 36 zusammengefasst.

Tabelle 36: Vergleichende Darstellung der arithmetischen Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) mit Standardabweichungen (SD) der Spuren- und Mengenelemente in Ejakulaten mit Normospermie (Gruppe 1) und Pathospermie (Gruppe 2) in der 2. Fraktion. n. s. = nicht signifikant

<b>Konzentrationen</b>	<b>Normospermie</b> $\bar{x} \pm SD$	<b>Pathospermie</b> $\bar{x} \pm SD$	<b>P</b>
Zink ( $\mu\text{mol} / \text{l}$ )	150,3 $\pm$ 23,4	150,3 $\pm$ 19,0	n. s.
Kupfer ( $\mu\text{mol} / \text{l}$ )	35,7 $\pm$ 12,0	45,4 $\pm$ 10,8	0,001
Eisen ( $\mu\text{mol} / \text{l}$ )	0,1 $\pm$ 0,4	0,6 $\pm$ 2,8	n. s.
Natrium (mmol/l)	140,0 $\pm$ 19,9	133,4 $\pm$ 11,1	n. s.
Kalium (mmol/l)	12,4 $\pm$ 3,8	11,6 $\pm$ 2,9	n. s.
Calcium (mmol/l)	0,7 $\pm$ 1,1	0,3 $\pm$ 0,4	n. s.
Magnesium (mmol/l)	2,0 $\pm$ 0,7	2,0 $\pm$ 0,8	n. s.
Phosphat (mmol/l)	0,7 $\pm$ 0,4	1,3 $\pm$ 1,4	n. s.

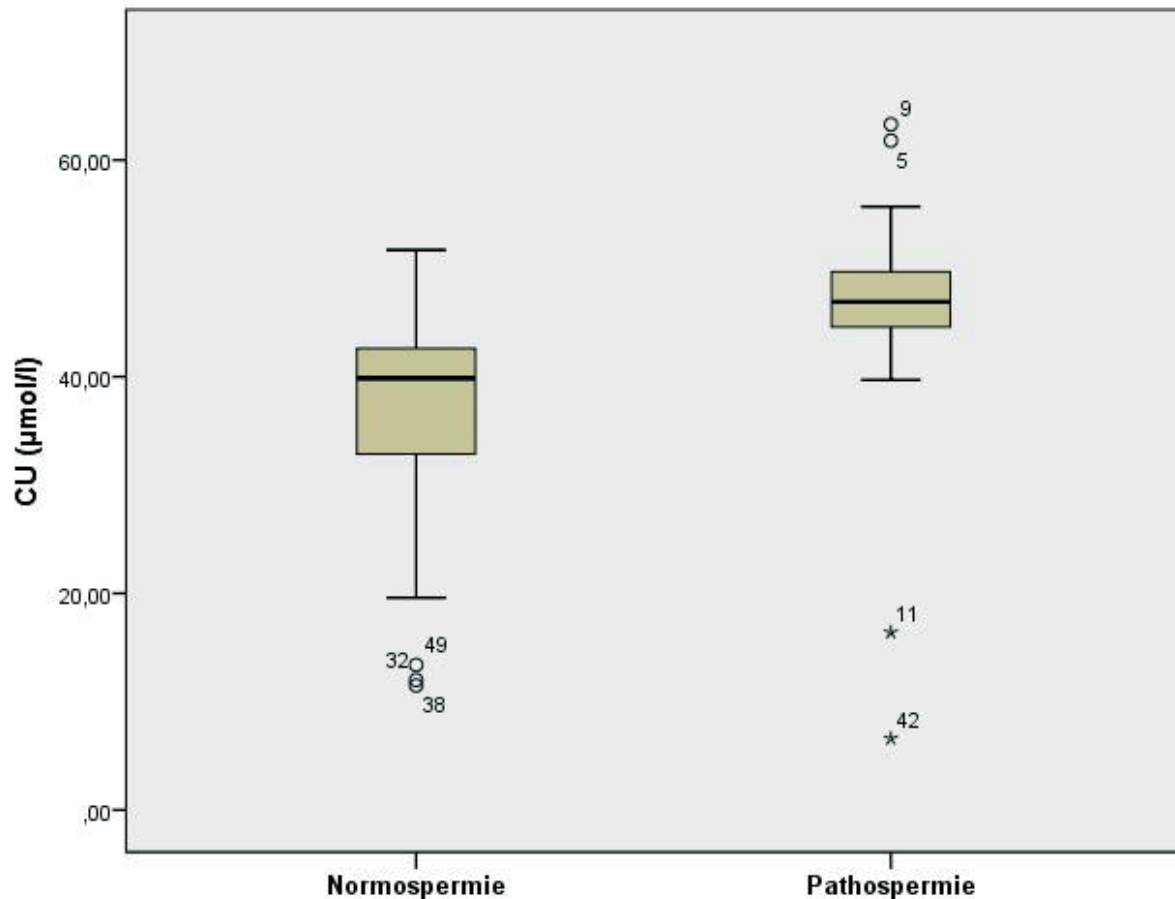


Abbildung 36: Vergleichende Boxplot-Darstellung der Kupferkonzentrationen in Fraktion 2. Statistisch hochsignifikante Unterschiede zwischen den Gruppen Normo- und Pathospermie konnten erwiesen werden.

◦ \* = Ausreißer

Anhand Abbildung 36 werden die hochsignifikanten Unterschiede ( $p = 0,001$ ) der Kupferkonzentration im direkten Vergleich der Gruppen 1 - 2 veranschaulicht. Der Medianwert der Gruppe 2 liegt im Gegensatz zu Gruppe 1 im höheren Bereich. Die Boxenhöhe der Gruppe 1 ist größer als bei Gruppe 2, daraus wird ersichtlich, dass bei Gruppe 2 die mittleren 50 Prozent der Messungen zentrierter um den Medianwert liegen.

Die maximalen Werte liegen bei Gruppe 2 im höheren Bereich. Die Minimalwerte bei Gruppe 1 liegen unterhalb der Minimalwerte der Gruppe 2.

### 4.2.3 Fraktion 3

#### 4.2.3.1 Enzyme

Die Enzymaktivitäten im Seminalplasma in der Fraktion 3 zeigten Unterschiede zwischen den einzelnen Ejakulaten (Tabelle 37, Abbildungen 37 - 39).

Tabelle 37: Arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) mit Standardabweichungen (SD) einschließlich Minimal- und Maximalwerte der Enzymaktivität im Seminalplasma von Rüden in der 3. Fraktion, wobei nicht zwischen Ejakulaten mit Normospermie und Pathospermie unterschieden wurde.

<b>Enzymaktivität (U/ l)</b>	<b><math>\bar{x} \pm SD</math></b>	<b>Minimalwert</b>	<b>Maximalwert</b>
Alkalische Phosphatase	755,6 ± 1346,3	5,0	7900,0
Saure Phosphatase	1497,6 ± 904,0	45,0	4185,0
nicht-prostataspezifische Saure Phosphatase	376,6 ± 240,7	0,0	990,0
Aspartat-Amino-Transferase	0,8 ± 0,6	0,0	3,0
Gamma-Glutamyl- Transferase	231,8 ± 804,9	1,0	5000,0
Laktatdehydrogenase	1,7 ± 2,0	0,0	13,5

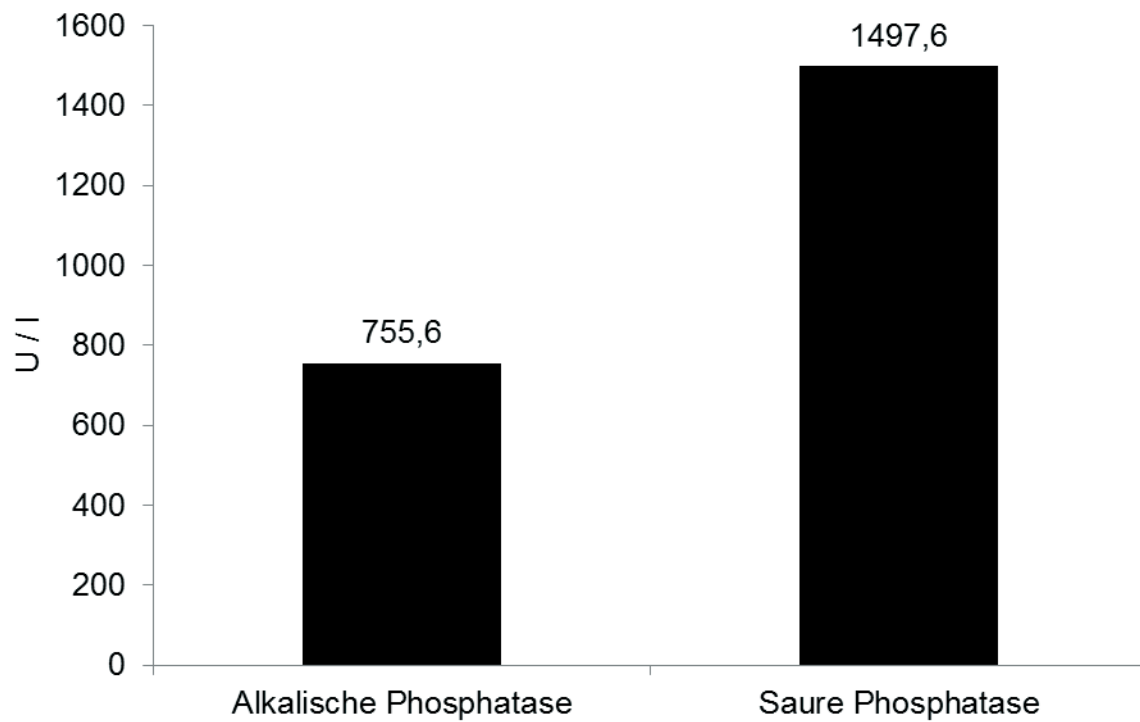


Abbildung 37: Enzymaktivität der Alkalischen und Sauren Phosphatase in Fraktion 3. Dargestellt sind jeweils die arithmetischen Mittelwerte.

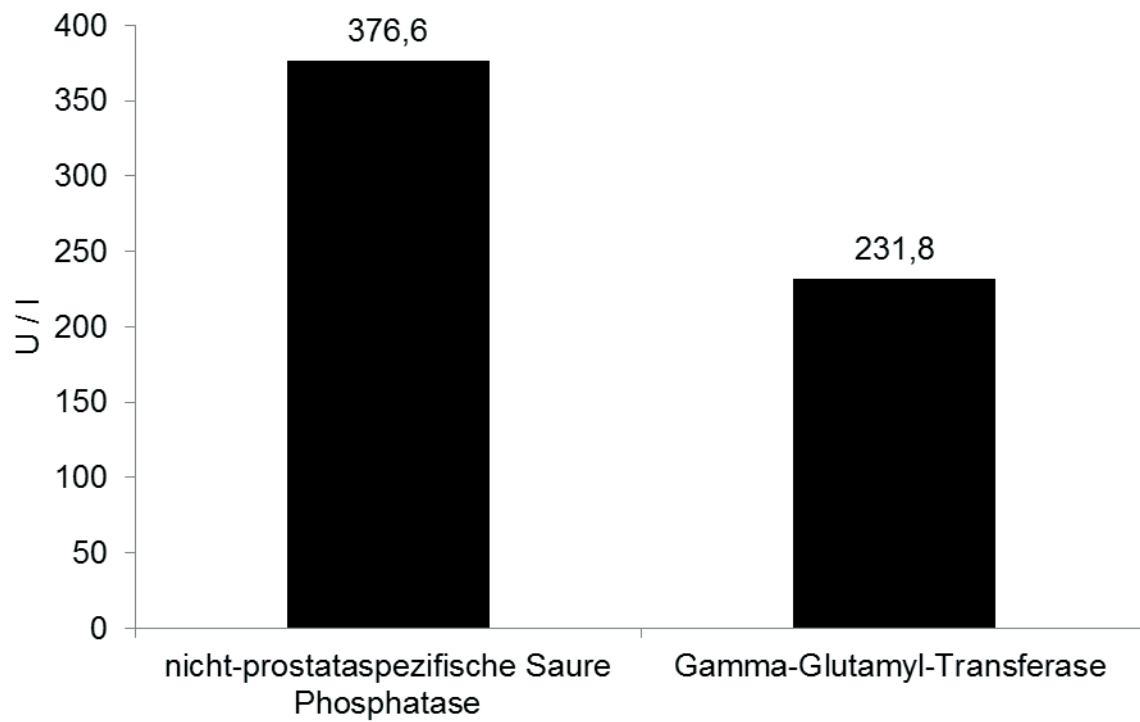


Abbildung 38: Enzymaktivität der nicht-prostataspezifischen Sauren Phosphatase und Gamma-Glutamyl-Transferase in Fraktion 3. Dargestellt sind jeweils die arithmetischen Mittelwerte.



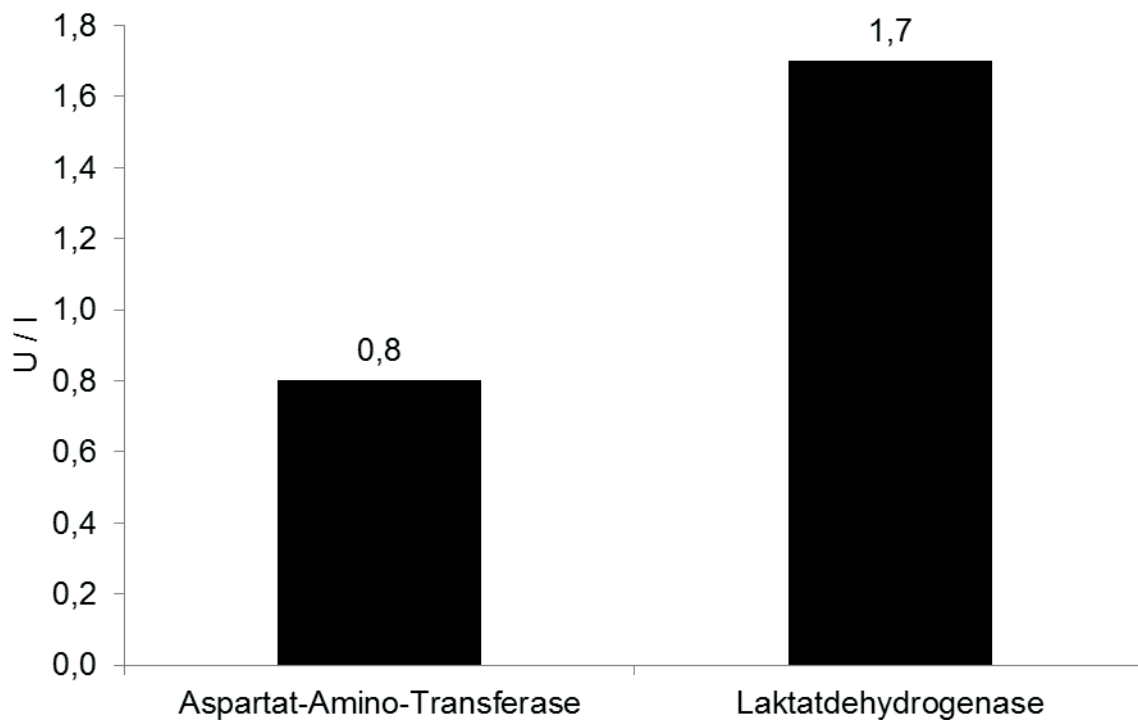


Abbildung 39: Enzymaktivität der Aspartat-Amino-Transferase und Laktatdehydrogenase in Fraktion 3. Dargestellt sind jeweils die arithmetischen Mittelwerte.

Zwischen den Gruppen 1 - 2 konnte ein statistisch signifikanter Unterschied für die Enzymaktivität der Alkalischen Phosphatase ( $p = 0,045$ ) dokumentiert werden. Dies ist in Abbildung 40 dargestellt.

Eine vergleichende tabellarische Darstellung der Gruppen 1 - 2 in Bezug auf die arithmetischen Mittelwerte und statistischer Signifikanz ist in der Tabelle 38 aufgeführt.

Tabelle 38: Vergleichende Darstellung der arithmetischen Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) mit Standardabweichungen (SD) der Seminalplasmaenzyme in Ejakulaten mit Normospermie (Gruppe 1) und Pathospermie (Gruppe 2) in der 3. Fraktion. n. s. = nicht signifikant

<b>Enzymaktivität (U/l)</b>	<b>Normospermie <math>\bar{x} \pm SD</math></b>	<b>Pathospermie <math>\bar{x} \pm SD</math></b>	<b>p</b>
Alkalische Phosphatase	1193,5 ± 1933,1	463,7 ± 627,6	0,045
Saure Phosphatase	1392,8 ± 751,9	1567,5 ± 998,9	n. s.
nicht-prostataspezifische Saure Phosphatase	355,5 ± 188,6	390,6 ± 272,1	n. s.
Aspartat-Amino-Transferase	0,8 ± 0,4	0,8 ± 0,7	n. s.
Gamma-Glutamyl-Transferase	318,2 ± 1119,7	174,0 ± 514,5	n. s.
Laktatdehydrogenase	1,4 ± 0,7	1,9 ± 2,5	n. s.

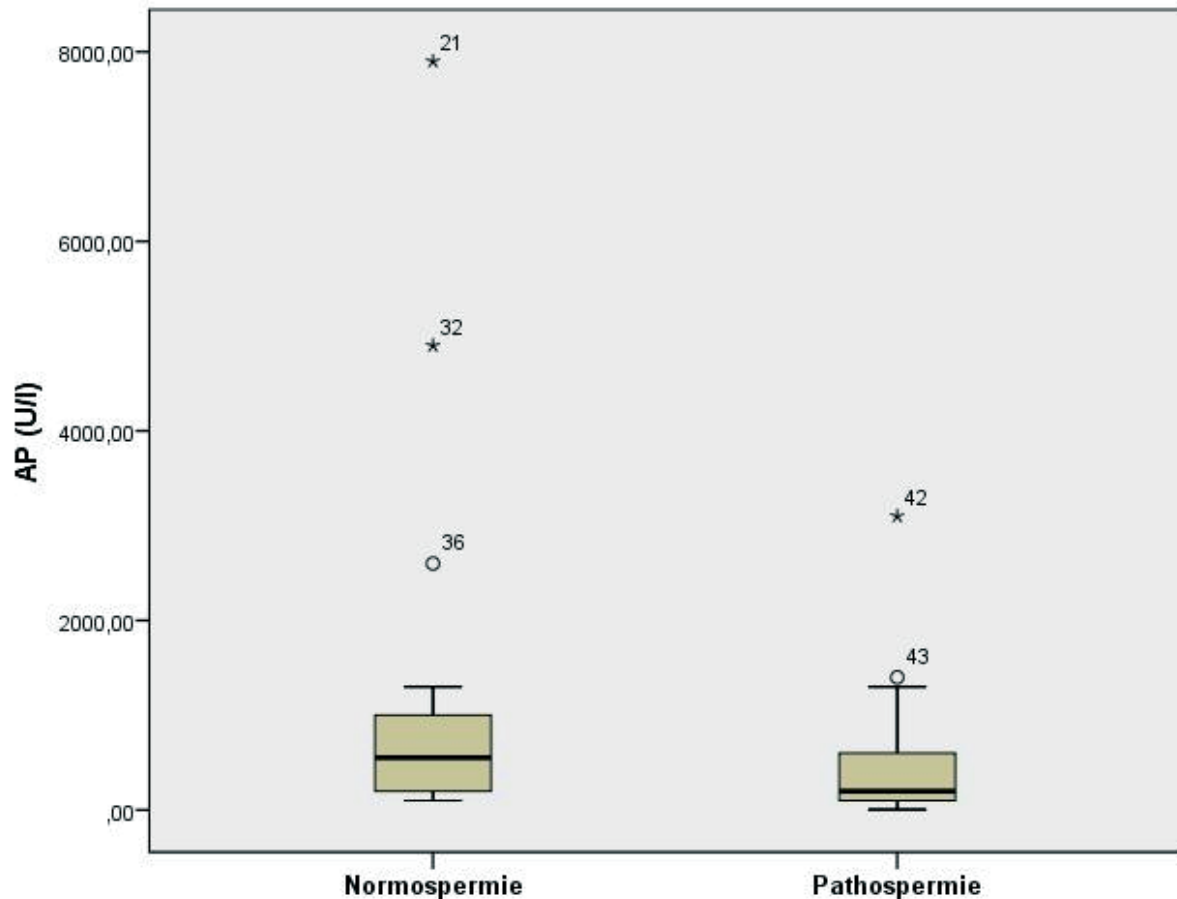


Abbildung 40: Vergleichende Boxplot-Darstellung der Enzymaktivität der Alkalischen Phosphatase in Fraktion 3. Es existieren statistisch signifikante Unterschiede.

° \* = Ausreißer

Abbildung 40 zeigt die Enzymkonzentration der Alkalischen Phosphatase (U/l) und die statistische Signifikanz ( $p = 0,045$ ) im Seminalplasma der Fraktion 3.

Der Medianwert der Gruppe 2 liegt im Gegensatz zu Gruppe 1 im niedrigeren Bereich. Die mittleren 50 Prozent der Messungen liegen bei Gruppe 2 enger um den Medianwert. Niedrigere Minimalwerte und höhere Maximalwerte für die Gruppe 2 dokumentiert.

#### 4.2.3.2. Mengen- und Spurenelemente

Die Konzentrationen der Mengen- und Spurenelemente im Seminalplasma der Fraktion 3 zeigten Unterschiede in den einzelnen Ejakulaten. Dies ist in Tabelle 39 und in den Abbildungen 41 - 43 dargestellt.

Tabelle 39: Arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) mit Standardabweichungen (SD) sowie Minimal- und Maximalwerte der Mengen- und Spurenelemente im Seminalplasma von Rüden in der 3. Fraktion, wobei nicht zwischen Ejakulaten mit Normospermie und Pathospermie unterschieden wurde.

<b>Konzentration</b>	<b><math>\bar{x} \pm SD</math></b>	<b>Minimalwert</b>	<b>Maximalwert</b>
Zink ( $\mu\text{mol} / \text{l}$ )	155,4 $\pm$ 8,5	145,7	180,9
Kupfer ( $\mu\text{mol} / \text{l}$ )	41,5 $\pm$ 8,8	0,0	56,6
Eisen ( $\mu\text{mol} / \text{l}$ )	0,2 $\pm$ 0,7	0,0	4,2
Natrium (mmol/l)	151,0 $\pm$ 14,3	129,2	203,9
Kalium (mmol/l)	11,9 $\pm$ 2,7	7,1	19,2
Calcium (mmol/l)	0,4 $\pm$ 1,1	0,1	7,5
Magnesium (mmol/l)	6,1 $\pm$ 28,0	0,4	200,0
Phosphat (mmol/l)	0,4 $\pm$ 0,5	0,0	2,7

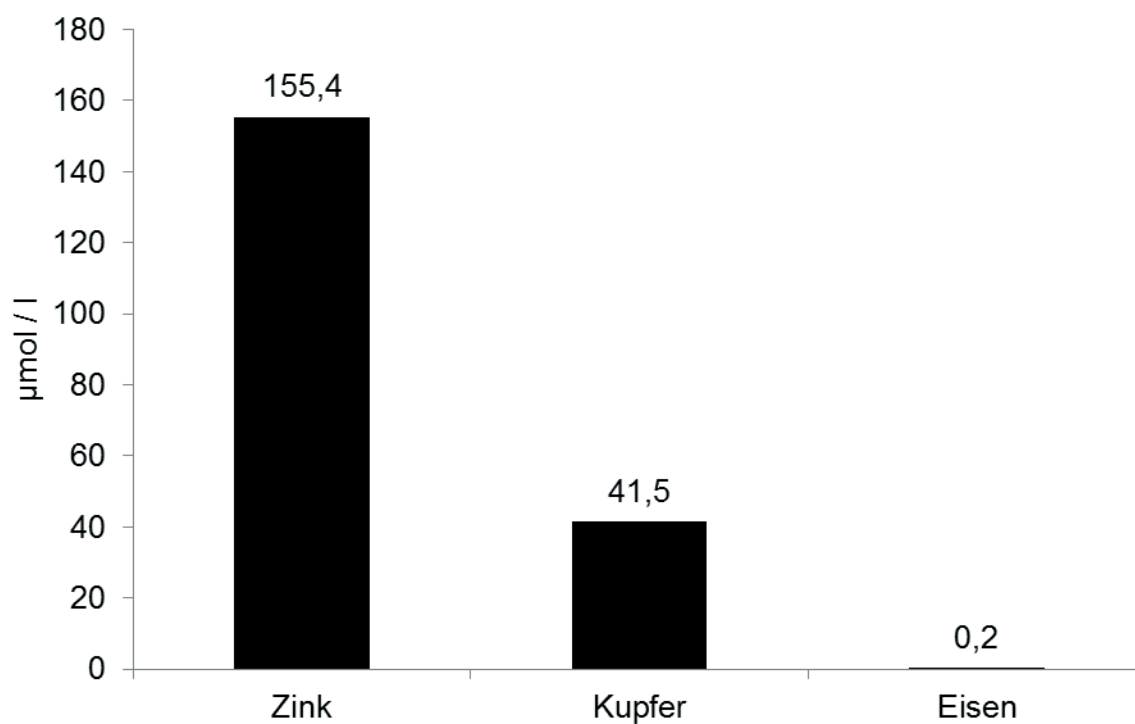


Abbildung 41: Arithmetische Mittelwerte der Zink-, Kupfer- und Eisenkonzentration in Fraktion 3.

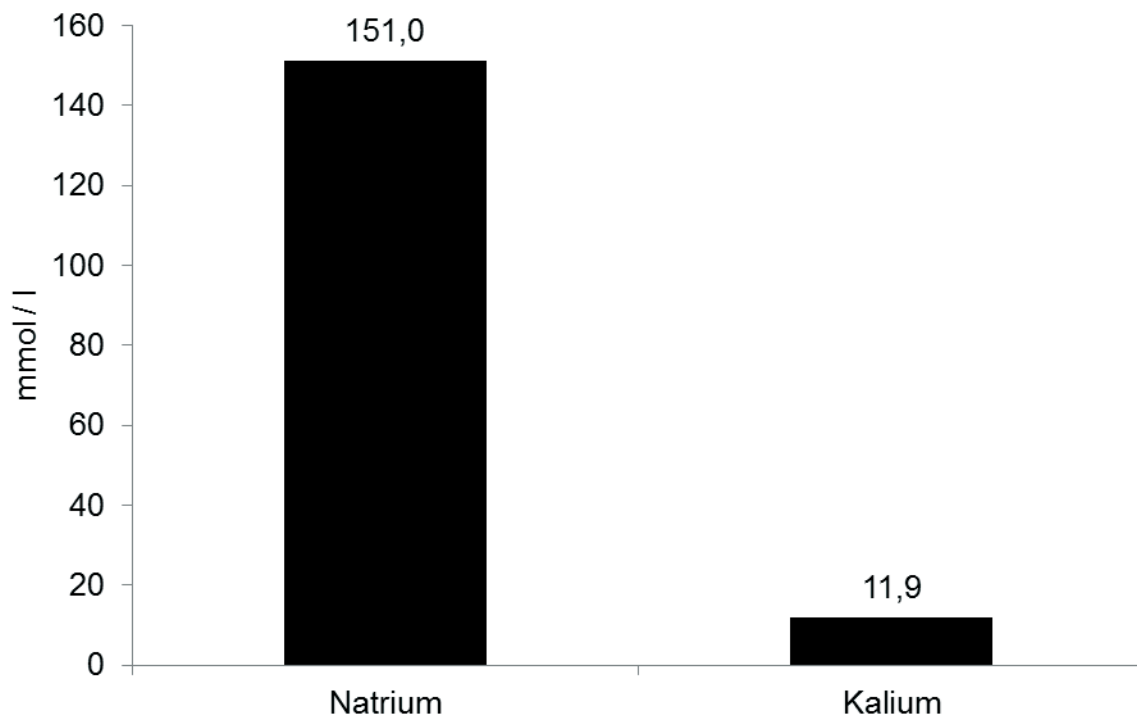


Abbildung 42: Arithmetische Mittelwerte der Natrium- und Kaliumkonzentration in Fraktion 3.

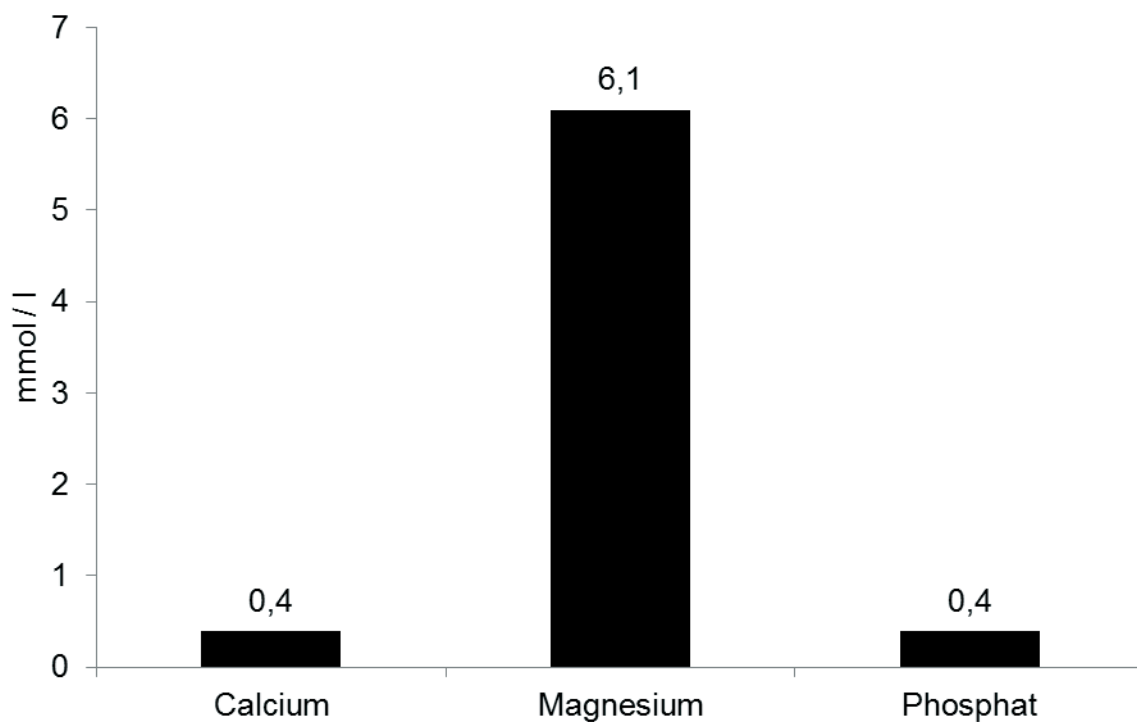


Abbildung 43: Arithmetische Mittelwerte der Calcium-, Magnesium- und Phosphatkonzentration in Fraktion 3.

Zwischen den Gruppen 1 und 2 konnte ein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Kupfer- ( $p = 0,027$ ) und Kaliumkonzentrationen ( $p = 0,002$ ) dokumentiert werden (Abbildungen 44 und 45).

Die Betrachtungen der weiteren Mengen- und Spurenelemente erwiesen sich als nicht statistisch signifikant. Eine vergleichende und zusammenfassende Übersicht der Gruppen 1 - 2 ist in Tabelle 40 dargestellt.

Tabelle 40: Vergleichende Darstellung der arithmetischen Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) mit Standardabweichungen (SD) der Mengen- und Spurenelemente in Ejakulaten mit Normospermie (Gruppe 1) und Pathospermie (Gruppe 2) in der 3. Fraktion. n. s. = nicht signifikant

<b>Konzentration</b>	<b>Normospermie</b> $\bar{x} \pm SD$	<b>Pathospermie</b> $\bar{x} \pm SD$	<b>p</b>
Zink ( $\mu\text{mol} / \text{l}$ )	156,6 $\pm$ 10,1	154,6 $\pm$ 7,3	n. s.
Kupfer ( $\mu\text{mol} / \text{l}$ )	38,6 $\pm$ 10,7	43,5 $\pm$ 6,8	0,027
Eisen ( $\mu\text{mol} / \text{l}$ )	0,3 $\pm$ 1,0	0,2 $\pm$ 0,5	n. s.
Natrium (mmol/l)	155,9 $\pm$ 17,6	147,7 $\pm$ 10,6	n. s.
Kalium (mmol/l)	13,1 $\pm$ 2,0	11,1 $\pm$ 2,8	0,002
Calcium (mmol/l)	0,7 $\pm$ 1,7	0,3 $\pm$ 0,3	n. s.
Magnesium (mmol/l)	12,2 $\pm$ 44,2	2,1 $\pm$ 0,9	n. s.
Phosphat (mmol/l)	0,4 $\pm$ 0,3	0,4 $\pm$ 0,5	n. s.

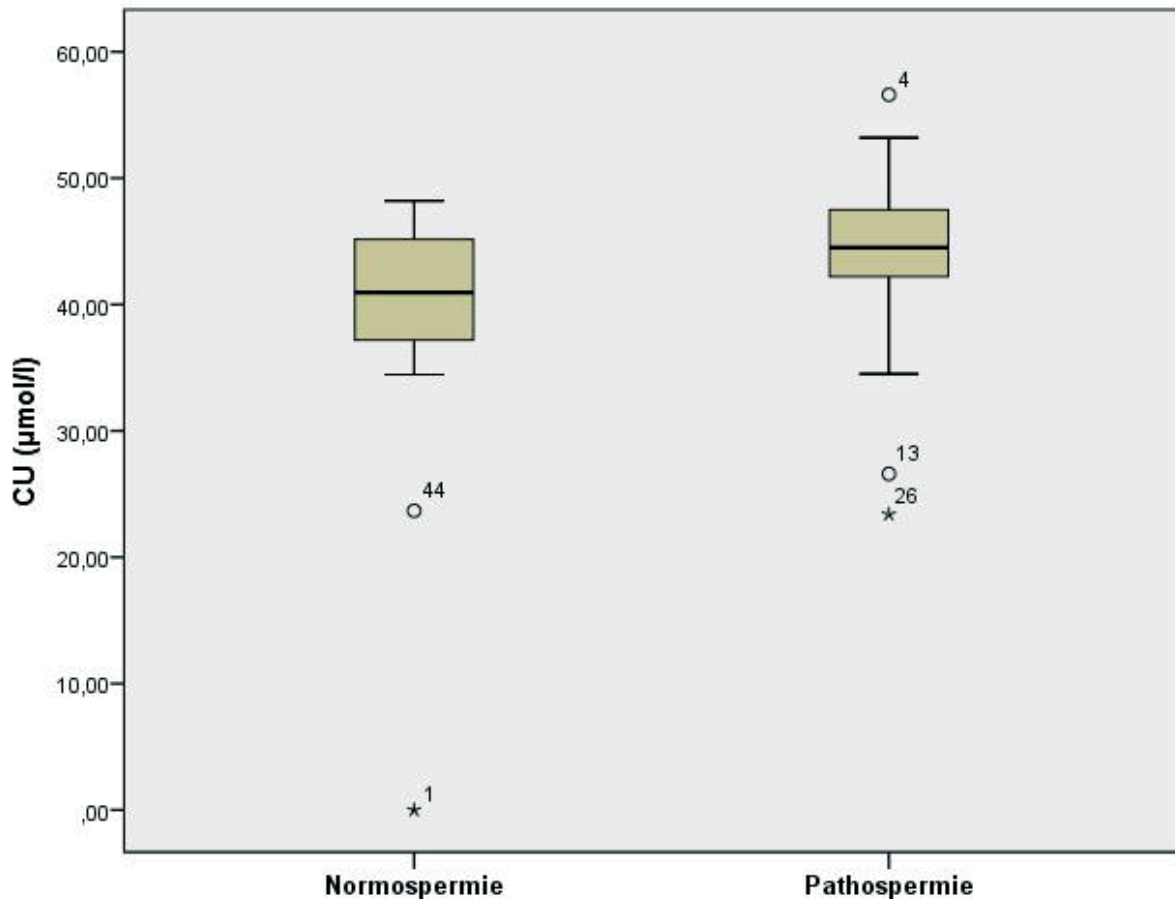


Abbildung 44: Vergleichende Boxplot-Darstellung der Kupferkonzentrationen in der Fraktion 3. Es existieren statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen Normo- und Pathospermie.  
 ◦ \* = Ausreißer

Abbildung 44 veranschaulicht die Kupferkonzentration und die statistische Signifikanz ( $p = 0,027$ ) im Seminalplasma der 3. Fraktion.

Der Medianwert der Gruppe 2 liegt im höheren Bereich. Die Boxenhöhe der Gruppe 2 verdeutlicht, dass die mittleren 50 Prozent der Messungen enger um den Medianwert liegen als bei Gruppe 1.

Die Minimalwerte der Gruppe 2 liegen unter den Minimalwerten der Gruppe 1. Höher gemessene Maximalwerte sind für die Gruppe 2 dokumentiert.



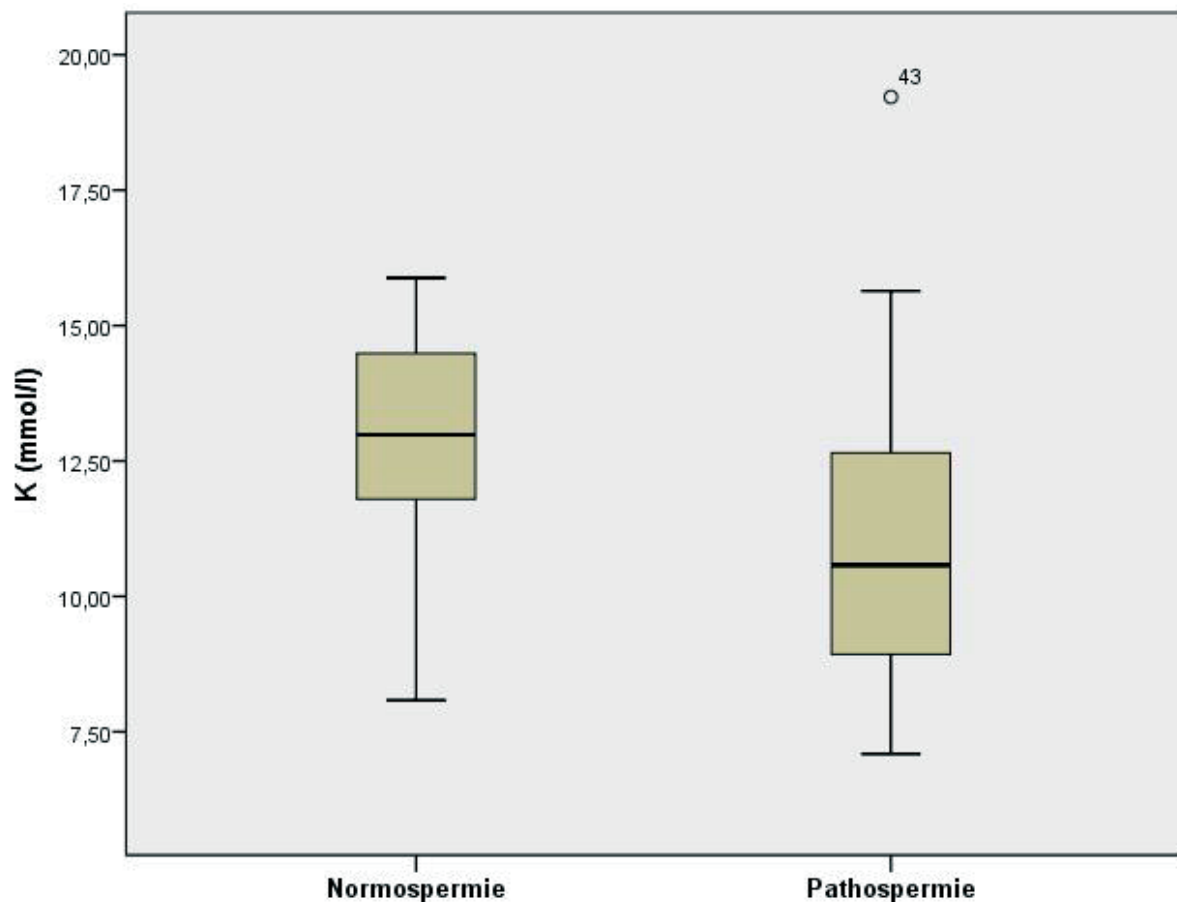


Abbildung 45: Vergleichende Boxplot-Darstellung der Kaliumkonzentrationen in Fraktion 3. Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen Normo- und Pathospermie konnten erwiesen werden.  
° = Ausreißer

Abbildung 45 zeigt die Kaliumkonzentrationen und die statistische Signifikanz ( $p = 0,002$ ) im Seminalplasma der 3. Fraktion in Bezug auf die Gruppen 1 - 2. Der Median der Messreihen liegt für die Gruppe 2 im niedrigeren Bereich. Die mittleren 50 Prozent der Messungen liegen in Gruppe 1 enger um den Medianwert. Niedrigere Minimalwerte und höhere Maximalwerte sind für die Gruppe 1 dokumentiert.

## 5 Diskussion

### 5.1 Diskussion der Fragestellung

Die Analyse des Ejakulats wird als Teil einer Zuchttauglichkeitsprüfung des Vattertieres, als Eignung des Spermias zur Besamung, zur Spermakonservierung oder zur Überprüfung der Fertilität und Infertilität des Tieres ausgeübt (ROOT KUSTRITZ 2007). Abnormitäten in der biochemischen Zusammensetzung des Seminalplasmas können sich in Infertilität äußern (COMHAIRE et al. 1987). Dennoch wird diese Komponente des Ejakulats bisher kaum im Rahmen einer Ejakulatuntersuchung beachtet.

Das Seminalplasma hat vielfältige Aufgaben und Funktionen (WABERSKI 2007, PESCH 2005, ELZANATY et al. 2002, POLAKOSKI und KOPTA 1982, MALTARIS et al. 2006). Es stellt einen essentiellen Bestandteil des caninen Ejakulats dar. Das Studium der Literatur hat gezeigt, dass nur wenige Forschungsarbeiten über die biochemische Zusammensetzung des Seminalplasmas vorliegen. Diese beschäftigen sich meist nur mit ausgewählten Parametern bei ausgewählten Säugetieren (PESCH et al. 2007, JOHNSTON 1991, QUINN und WHITE 1967, BERNSTEIN, 1933). DE SOUZA et al. (2006 und 2007) analysierten einzelne Komponenten im Seminalplasma von Rüden. Die genaue Zusammensetzung des caninen Seminalplasmas hinsichtlich der Enzymaktivitäten und Konzentrationen von Mengen- und Spurenelementen findet jedoch keine Abhandlung.

So war es Ziel dieser Studie, die mittleren Aktivitäten der verschiedenen Enzyme und die Konzentrationen von Mengen- und Spurenelementen bei Normo- und Pathospermie im Seminalplasma zu überprüfen.

Bevor es zur Untersuchung von Proben aus verschiedenen Ejakulaten kommt, werden die Proben häufig tiefgefroren. Die Auswirkungen des Tiefgefrier- und Auftauprozesses auf die Enzymaktivitäten im caninen Seminalplasma finden in der Literatur bisher keine Beachtung. So war es ein weiteres Ziel der eigenen Studien, die Auswirkungen des Tiefgefrierprozesses auf die Enzymaktivitäten im caninen Seminalplasma zu überprüfen.

## 5.2 Diskussion der Methode

Das Seminalplasma wurde von Rüden einer heterogenen Gruppe bezüglich der Rassen, des Alters und der Fruchtbarkeit entnommen, um dem Kollektiv in einer Tierarztpraxis nahe zu kommen. Es standen insgesamt 50 Rüden im Alter von einem bis zehn Jahre zur Verfügung. Die Probengewinnung erfolgte ganzjährig. Die Spermatogenese ist beim Hund nicht saisonal, so dass die Jahreszeit der Probengewinnung keinen Einfluss auf die Spermaqualität hat (CHRISTENSEN et al. 2011).

Um den allgemeinen Gesundheitsstatus des Tieres zu erfassen, wurde stets vor der andrologischen Untersuchung eine allgemeine klinische Untersuchung durchgeführt. Konnte ein allgemeiner guter gesundheitlicher Zustand des Tieres verzeichnet werden, folgte die andrologische Untersuchung des Tieres entsprechend der Methode nach WEITZE (2001), und der Proband wurde in die Studie aufgenommen.

Die manuelle Stimulation zur Gewinnung des caninen Ejakulats ist die häufigste angewendete Methode und wurde bereits von verschiedenen Wissenschaftlern beschrieben (SEAGER 1986, GÜNZEL-APEL 1994, LINDE-FORSBERG 1995).

Während der manuellen Stimulation ejakulieren die meisten Hunde die spermienreiche Fraktion mit nur einem geringen Anteil an Prostataflüssigkeit (FOOTE 1964), im Gegensatz zur Elektroejakulation, bei der die Prostata kontinuierlich und direkt stimuliert werden muss, um die spermienreiche Fraktion zu gewinnen (OHL et al. 1994).

Die manuelle Stimulation ist leicht umsetzbar, bedarf weniger Hilfsmittel, ist effektiv und die Probanden benötigen kein Training. Zudem findet diese Methode die größte Toleranz und Akzeptanz beim Patientenbesitzer, besitzt eine hohe Praxisrelevanz und wurde deshalb für die vorliegende Arbeit gewählt.

Ein Nachteil dieser Methode besteht darin, dass die Gewinnung und die saubere Trennung der einzelnen Fraktionen von den Erfahrungen des Untersuchers abhängig sind. Der nachteilige Effekt der manuellen Separierung liegt in der Subjektivität des Untersuchers. Konnte der optische Umschlag des Ejakulats von klar und wässrig zu weiß und milchig verzeichnet werden, wurde der Auffangbehälter gewechselt. Die Separierung der Fraktionen erfolgte somit anhand der optischen Eigenschaften des Ejakulats, was zu einer nicht exakten Trennung der einzelnen Fraktionen führen kann.

Allgemein kann das Seminalplasma aus dem Gesamtejakulat oder aus dem Splitejakulat separiert werden. In der vorliegenden Studie wurde das Ejakulat als Splitejakulat gewonnen, um die einzelnen drei Fraktionen separat aufzufangen.

Um Schädigungen der Ejakulate zu vermeiden, wurden alle Proben bei einer Temperatur von 37 °C aufbewahrt (KUTLZER 2005).

Unabhängig von der Ausgangsflüssigkeit kann das Seminalplasma auf unterschiedliche Weise separiert werden. Neben der am häufigsten eingesetzten Zentrifugation, kann das Seminalplasma durch weitere Methoden gewonnen werden. Dazu zählen die Swim-up-Methode (LOPATA et al. 1976), die Filtration mittels Glaswolle (PAULSON und POLAKOSKI 1977), die Migrationstechniken (TEA et al. 1983) und die Gradientenzentrifugation (GORUS und PIPER 1981). Welche Methode Anwendung findet, hängt von der Spermaqualität, der beabsichtigten Anwendung der Ejakulate und der Umsetzbarkeit der Technik ab (MICHELMANN und HINNEY 1994). Da routinemäßig in der Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere mit Tierärztlicher Ambulanz der Justus-Liebig-Universität Gießen die Spermaaufbereitung mit Hilfe der Zentrifugation durchgeführt wird, wurde in der vorliegenden Studie diese Methode gewählt.

In der Literatur finden sich verschiedene Angaben hinsichtlich der Zentrifugalbeschleunigung (g) für die Seminalplasmaaufbereitung. SCHÄFER-SOMI et al. (2011) verwendeten bei der Aufbereitung des caninen Seminalplasmas 700g über 5 Minuten. DE SOUZA et al. (2006) benutzten zur Separierung hingegen 800g über 10 Minuten.

In der vorliegenden Arbeit wurde das Seminalplasma bei 700g über 10 Minuten zentrifugiert. Anschließend wurde der Überstand dekantiert und erneut bei 700 g über 10 Minuten zentrifugiert.

Anschließend erfolgte eine lichtmikroskopische Kontrolle auf das Freisein von Spermien, um einen weiteren Stoffaustausch zwischen Spermien und Seminalplasma zu verhindern und eventuelle Verfälschungen der Ergebnisse auszuschließen.

Bis zur Messung der biochemischen Inhaltsstoffe wurden alle Proben in Reaktionsgefäßen bei einer Temperatur von -20 Grad tiefgefroren und bei Raumtemperatur am Tag der Messung aufgetaut.

Die Bestimmung der biochemischen Zusammensetzung des Seminalplasmas wurde mit Hilfe von handelsüblichen Analysegeräten des Serums durchgeführt. Bereits 1960 fand diese Art der Methode zur Messung biochemischer Komponenten des Seminalplasmas Einsatz (DAVID 1960). QUINN et al. (1965) beschrieben in ihrer Studie den Vorteil der exakten und schnellen Durchführung dieser Methode.

Bei den vorliegenden Untersuchungen wurde für die Messungen der Konzentrationen von Zink, Kupfer, Eisen, Magnesium, Phosphat und der Aktivitäten der Alkalischen Phosphatase, Sauren Phosphatase, nicht-prostataspezifischen Sauren Phosphatase, Aspartat-Amino-Transferase, Gamma-Glutamyl-Transferase sowie Laktatdehydrogenase die Spektralphotometrie gewählt.

Die Bestimmung der Konzentrationen von Natrium, Kalium und Calcium erfolgte mittels Flammenphotometrie. Diese Methoden sind im klinikeigenen Labor etabliert.

### 5.3 Diskussion der Ergebnisse

#### 5.3.1 Vorversuch

Der Einfluss des Tiefgefrier- und Auftauprozesses auf die Enzymaktivität im caninen Seminalplasma sollte in der vorliegenden Arbeit überprüft werden. Sämtliche Werte der Enzymaktivitäten an den Tagen 0, 1, 7 und 30 sind in den Tabellen 7 - 24 und in den Abbildungen 5 - 22 dargestellt.

Ein besonders drastischer Abfall der Mittelwerte am 30. Tag der Messung konnte bei den Aktivitäten der Alkalischen Phosphatase, Aspartat-Amino-Transferase und der Laktatdehydrogenase verzeichnet werden. Statistisch signifikante Unterschiede konnten dokumentiert werden. Auffallend sind die Ergebnisse der Gamma-Glutamyl-Transferase in der 1. Fraktion und der 3. Fraktion. So stieg die mittlere Aktivität vom 0. Tag bis zum 30. Tag der Messung an. Ähnliche Ergebnisse konnten in der 3. Fraktion der nicht-prostataspezifischen Sauren Phosphatase verzeichnet werden. Erklärungen für diese Diskrepanzen können nicht gefunden werden.

Sämtliche Enzyme zeigten am Tag 0 verglichen mit Tag 1 nur minimale Verringerungen in der Aktivität. Daher kann darauf geschlossen werden, dass der Einfrier- und Auftauprozess auf die Ergebnisse des Hauptversuches nur geringgradige Auswirkungen besitzt.

### 5.3.2 Hauptversuch

#### 5.3.2.1 Enzymaktivitäten

Die Aktivität der Alkalischen Phosphatase ist in der 2. Fraktion eines gewonnenen Splitejakulats signifikant höher als in der ersten und dritten Fraktion (MOLLO et al. 1997, GELMINA et al. 1999, OLSON 1989, STORNELI et al. 2000). In der vorliegenden Arbeit konnten ebenfalls höhere Aktivitäten in der 2. Fraktion verzeichnet werden.

In der Literatur sind verschiedene Aktivitäten der Alkalischen Phosphatase im caninen Ejakulat angegeben. JOHNSTON (1991) dokumentiert eine Aktivität von 5000 U/l - 40.000 U/l, wohingegen JAMES et al. (1979) von Aktivitäten zwischen 5500 U/l - 14.000 U/l berichten.

KUTZLER et al. (2003) analysierten die Aktivität in der ersten und zweiten Fraktion des caninen Seminalplasmas. Dabei verwendeten sie die erste und zweite Fraktion als Gesamtmesssubstanz und erhielten Werte von 29.100 - 49.080 U/l. PESCH et al. (2007) verzeichneten Werte von > 10.000 IU/l. GUNAY et al. (2003) ermittelten Aktivitäten der spermienreichen Fraktion von 4189 U/l  $\pm$  526.1. Die eigenen Ergebnisse liegen im Bereich der von JOHNSTON (1991) und KUTZLER et al. (2003) beobachteten Werte. SCHÄFER-SOMI et al. (2012) dokumentierten höhere Aktivitäten in der 2. und 3. Fraktion im Vergleich zu den eigenen Ergebnissen. So verzeichneten sie Werte von 3299,8 U/l, 107328,6 U/l und 1717,2 U/l für die einzelnen drei Fraktionen.

Bei diesen Ergebnissen ist aber darauf hinzuweisen, dass die Proben mittels Reflotron® (Roche Diagnostics, Vienna, Austria) analysiert wurden. Zudem untersuchten sie 40 Probanden ausschließlich mit Normospermie; der Altersdurchschnitt ( $5,1 \pm 3,3$ ) lag außerdem unter dem der eigenen Untersuchung.

Im Gruppenvergleich Normo- und Pathospermie konnten in der 3. Fraktion statistisch signifikante Unterschiede ( $p = 0,045$ ) belegt werden. Eine niedrigere Aktivität der Alkalischen Phosphatase in der Gruppe Pathospermie konnte dokumentiert werden.

Die 1. und 3. Fraktion des caninen Ejakulats wird von der Prostata gebildet (ENGLAND und ALLEN 1990). Da die Alkalische Phosphatase jedoch nachweislich aus dem Nebenhoden stammt (FRENETTE et al. 1986), ist eine Erkrankung der Prostata als Ursache des Ergebnisses als unwahrscheinlich zu betrachten. Warum sich die 3. Fraktion zwischen den Gruppen Normo- und Pathospermie signifikant

unterscheidet, bleibt unklar. Ob und inwieweit sich die gewählte Methode der Desemination sowie die verwendeten Reagenzien zur Aufarbeitung der Ergebnisse auf die finalen Konzentrationen auswirken, bleibt ungewiss. Da keine Erklärung der Diskrepanz zwischen den Gruppen gefunden werden konnte, sind weiterführende Untersuchungen notwendig.

Die biochemischen Eigenschaften der Sauren Phosphatase ähneln dem humanen Enzym, allerdings ist die Konzentration weitaus geringer als beim Mann (DUBE et al. 1986 und 1987). BELL et al. (1995) verglichen in einer Studie, die Aktivitäten der Sauren Phosphatase von klinisch unauffälligen Rüden mit Rüden, die an Erkrankungen der Prostata litten. Sie verzeichneten keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Aktivität. Da sich die höchsten Konzentrationen der Sauren Phosphatase in der Prostata (MANN und LUTWAK-MANN 1981) befinden, wird sie in der Literatur (MANN und LUTWAK-MANN 1981, ERBING 1988) als geeigneter Indikator für die sekretorische Funktion der Prostata angesehen. Dies wurde ebenfalls für das canine Ejakulat bestätigt (JAMES et al. 1979).

In den eigenen Untersuchungen konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen Normo- und Pathospermie dokumentiert werden. Die Gruppen Normospermie und Pathospermie zeigten vergleichbare Aktivitäten.

So kann das vorliegende Ergebnis einerseits ein Hinweis dafür sein, dass die Aktivität der Sauren Phosphatase keine Bedeutung in Bezug auf die Fertilität besitzt oder in Anlehnung an die Aussagen der Literatur (MANN und LUTWAK-MANN 1981, ERBING 1988, JAMES et al. 1979) auf eine ungestörte sekretorische Funktion der Prostata hinweist. Für die Fraktionen 2 und 3 wurden vergleichbare Aktivitäten dokumentiert, was den Aussagen von MANN und LUTWAK-MANN (1981) widerspricht. Aufgrund der übereinstimmenden Werte kann darauf geschlossen werden, dass das Enzym der Prostata und den Hoden entstammt.

Zur Aktivität der Sauren Phosphatase im fraktionierten caninen Seminalplasma sind kaum Daten vorhanden. Im Vergleich zu anderen Haussäugetieren konnte PESCH (2005) eine mittlere Aktivität im equinen Seminalplasma von 20,0 U/l ermitteln. KÜPFER (1972) und GASTAUER (1974) analysierten die Aktivitäten der Sauren Phosphatase beim Bullen und erhielten Werte von  $2100 \pm 667$  U/l (KÜPFER) und  $1826 \pm 536,2$  U/l (GASTAUER). ERBING (1988) veröffentlichte eine Aktivität von 367,5 U/l im Seminalplasma von Ebern.

Im Vergleich ähneln die mittleren Aktivitäten der Sauren Phosphatase im caninen Seminalplasma denen von GASTAUER (1974) gemessenen Aktivitäten beim Bullen. Die Enzymaktivitäten beim Hengst (PESCH 2005) und Eber (ERBING 1988) liegen im deutlich geringeren Bereich. Die tierartlichen Unterschiede (MANN und LUTWAK-MANN 1981) werden ersichtlich.

Über die Aktivität der nicht-prostataspezifischen Sauren Phosphatase im Seminalplasma, konnten in der Literatur keine Daten zum Vergleich der vorliegenden Ergebnisse gefunden werden. In den eigenen Untersuchungen konnten in der 2. und 3. Fraktion vergleichbare Aktivitäten des Enzyms dokumentiert werden. Da die 1. und 3. Fraktion des caninen Ejakulats aus der Prostata stammt (ENGLAND und ALLEN 1990) und die 2. Fraktion testikulären Ursprung ist, lässt das vorliegende Ergebnis darauf schließen, dass beide Organe an der Freisetzung des Enzyms beteiligt sind. Um dieses Ergebnis verifizieren zu können, sollten in weiterführenden Untersuchungen die Aktivitäten des Enzyms vor und nach einer Orchiectomie ermittelt werden.

In dem Gruppenvergleich Normo- und Pathospermie konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede dokumentiert werden. Aus diesem Grunde scheint die Aktivität der nicht-prostataspezifischen Sauren Phosphatase im caninen Seminalplasma keine Bedeutung als diagnostischer Marker in Bezug auf die Fertilität zu besitzen und stellt die Eignung des Enzyms als Parameter zur Verwendung in der Diagnostik in Frage.

Die Aktivitäten der Aspartat-Amino-Transferase im Seminalplasma unterschiedlicher Haussäugetiere wurden publiziert. So konnte PESCH (2005) eine mittlere Aktivität im equinen Seminalplasma von 80,0 U/l dokumentieren. Weiterhin wurden mittlere Aktivitäten der Aspartat-Amino-Transferase von 116,72 U/l, 364,02 U/l und 37,6 U/l im Seminalplasma von Büffel, Schafböcken und Hasen veröffentlicht (CHAUHAN und SRIVASTAVA 1973, GNDOU' AN 2006, YOUSEF et al. 2003).

Die eigenen Resultate bestätigen, dass es deutliche tierartliche Unterschiede bezüglich der Aktivitäten im Seminalplasma gibt. Im Vergleich zu anderen Tierarten (CHAUHAN und SRIVASTAVA 1973, YOUSEF et al. 2003, GNDOU' AN 2006) ist die Aktivität der Aspartat-Amino-Transferase im caninen Seminalplasma deutlich geringer. Die mittlere Aktivität der Aspartat-Amino-Transferase ist in der 2. Fraktion



höher als in der 1. und 3. Fraktion. Dieses Ergebnis verzeichnete ebenfalls die Arbeitsgruppe von JAMES et al. (1979). So kann anhand des vorliegenden Resultats darauf geschlossen werden, dass das Enzym testikulärer Herkunft ist.

Der Gruppenvergleich Normo- und Pathospermie konnte keine statistisch signifikanten Unterschiede dokumentieren. Des Weiteren zeigten die mittleren Aktivitäten in den Gruppen Normo- und Pathospermie in den drei Ejakulatfraktionen ähnliche Werte. Dies lässt darauf schließen, dass die Aktivität der Aspartat-Amino-Transferase im caninen Seminalplasma keine Bedeutung als diagnostischer Marker in Bezug auf die Fertilität besitzt und stellt die Eignung des Enzyms als Parameter zur Verwendung in der Diagnostik in Frage.

Der Syntheseort der Gamma-Glutamyltransferase ist speziesabhängig (KOHDAIRA et al. 1986). So stammt das Enzym bei Ratten primär aus den Epithelzellen der Epididymis und der *Glandula vesicularis* (KOHDAIRA et al. 1986), im equinen Seminalplasma wurde ein testikulärer und epididymaler Ursprung dokumentiert (PESCH 2005). In den eigenen Untersuchungen konnten deutlich höhere Aktivitäten des Enzyms in der 2. Fraktion dokumentiert werden. Dies kann ein Hinweis auf den testikulären Ursprung des Enzyms im caninen Seminalplasma sein. Diese Vermutung bedarf jedoch weiterführender Untersuchungen. So sollten in anschließenden Studien die Aktivitäten der Gamma-Glutamyltransferase vor und nach einer Orchiektomie im caninen Seminalplasma gemessen werden, um den testikulären Ursprung verifizieren zu können.

Die Gamma-Glutamyltransferase besitzt eine essentielle Bedeutung als Schutzfunktion der Spermatozoen (LAN et al. 1998). Da es sich bei der 2. Ejakulationsfraktion um die spermienreiche Hauptfraktion handelt, könnten die höheren gemessenen Aktivitäten der vorliegenden Arbeit ein Hinweis für die Aussagen von LAN et al. (1998) sein.

Der Gruppenvergleich Normo- und Pathospermie dokumentierte keine statistisch signifikanten Unterschiede. Aufgrund dessen kann in Anlehnung an die Humanmedizin (COMHAIRE et al. 1989) nicht darauf geschlossen werden, dass die Aktivität der Gamma-Glutamyltransferase eine Bedeutung als diagnostischer Marker in Bezug auf die Fertilität besitzt.

Die Laktat-Dehydrogenase katalysiert die Umwandlung von Laktat zu Pyruvat. Dies ist ein wichtiger Schritt für die Energieversorgung der Zelle und wird somit für den Energiestoffwechsel der Spermien benötigt (ORLANDO et al. 1988). Studien aus der Humanmedizin (SCHMIDT und SCHMIDT 1974, MANN und LUTWAK-MANN 1981) begründen niedrige Aktivitäten dieses Enzyms durch geringe Enzymproduktionen in funktionsgestörten Zellen. In Anlehnung an die Aussagen aus der Literatur (SCHMIDT und SCHMIDT 1974, MANN und LUTWAK-MANN 1981) ist jedoch die canine Samenflüssigkeit durch niedrige Aktivitäten der Laktat-Dehydrogenase gekennzeichnet (MURDOCH und WHITE 1967). Im Gesamtvergleich aller Enzymaktivitäten der vorliegenden Arbeit wird ersichtlich, dass die Aktivitäten der Laktat-Dehydrogenase im niedrigsten Bereich liegen. Die Aussagen von MURDOCH und WHITE (1967) können daher bestätigt werden.

In der 2. Fraktion ist die mittlere Aktivität im Vergleich zu den Fraktionen 1 und 3 höher. Dies deutet darauf hin, dass das Enzym testikulären Ursprungs ist und eine essentielle Funktion (ORLANDO et al. 1988) für die Spermien besitzt.

Im Gruppenvergleich Normo- und Pathospermie konnten keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Enzymaktivität dokumentiert werden. So kann darauf geschlossen werden, dass die Aktivität der Laktat-Dehydrogenase im caninen Seminalplasma keine Bedeutung in Bezug auf die Fertilität besitzt und lässt daher die Messung der Enzymaktivität in der Diagnostik als nicht sinnvoll erscheinen.

### 5.3.2.2 Konzentrationen von Mengen- und Spurenelementen

WALES und WHITE (1965) beschreiben Natrium als wichtigstes Kation in den drei Fraktionen des caninen Ejakulats. Natrium entstammt hauptsächlich der Prostata (DE SOUZA et al. 2006). Die eigenen Ergebnisse bestätigen die Aussagen von DE SOUZA et al. (2006). So konnten im Vergleich der drei Ejakulatfraktionen höhere Natriumkonzentrationen in den Fraktionen 1 und 3 verzeichnet werden.

Die Werte, die für die Natriumkonzentrationen in der Literatur angegeben werden, betragen  $173 \pm 199$  mmol/l (SCHÄFER-SOMI et al. 2011), 144 mmol/l (MANN und LUTWAK-MANN 1981),  $146,93 \pm 41,96$  mmol/l ( $146,93 \pm 41,96$  mEq/l) (DE SOUZA et al. 2006),  $142,52 \pm 9,62$  mmol/l ( $142,52 \pm 9,62$  mEq/l) (GUNAY et al. 2003),  $145 \pm 6$  mmol/l ( $145 \pm 6$  mEq/l) (WALES und WHITE 1965).

BARTLETT (1961) dokumentierte eine Konzentration von 192,0 mmol/l (192,0 mEq/L) in der 2. Fraktion sowie eine Konzentration von 172,0 mmol/l (172,0 mEq/L) in der 3. Fraktion.

Die eigenen Ergebnisse entsprechen mit minimalen Abweichungen den vorangegangenen Studien. Im Gruppenvergleich Normo- und Pathospermie konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede verzeichnet werden. Obwohl Natrium in der Literatur als wichtigstes Kation (WALES und WHITE 1965) beschrieben wird, kann in der vorliegenden Arbeit kein Zusammenhang der Konzentration zur Spermienfunktion vermutet werden.

Die Kaliumkonzentration ist in der spermienreichen 2. Fraktion höher als in der von der Prostata gebildeten 1. und 3. Fraktion (WALES und WHITE 1965). In den eigenen Untersuchungen konnte dies nur für die 1. Fraktion belegt werden. Die Fraktionen 2 und 3 unterscheiden sich hinsichtlich der Kaliumkonzentration nicht.

Die Werte der Kaliumkonzentrationen, die in der Literatur angegeben sind, betragen  $10,5 \pm 3,3$  mmol/l (SCHÄFER-SOMI et al. 2011), 8 mmol/l (MANN und LUTWAK-MANN 1981),  $12,90 \pm 1,78$  mmol/l ( $12,90 \pm 1,78$  mEq/l) (GUNAY et al. 2003),  $11,76 \pm 2,83$  mmol/l ( $11,76 \pm 2,83$  mEq/l) (DE SOUZA et al. 2006).

BARTLETT (1961) ermittelte in der 2. Fraktion eine Aktivität von 12,4 mmol/l (12,4 mEq/L) und in der 3. Fraktion eine Aktivität von 7,5 mmol/l (7,5 mEq/L).

Die Ergebnisse der eigenen Untersuchungen bestätigen mit minimalen Abweichungen die Literaturangaben.

Im Gruppenvergleich Normo- und Pathospermie konnten statistisch signifikante Unterschiede ( $p = 0,002$ ) in der 3. Fraktion dokumentiert werden. Höhere Kaliumkonzentrationen verzeichneten die Probanden der Gruppe Normospermie. Da die 3. Fraktion des caninen Ejakulats und das Kalium der Prostata entstammen (ENGLAND und ALLEN 1990 und DE SOUZA et al. 2006), können die dokumentierten Gruppenunterschiede auf eine Funktionsstörung oder Erkrankung der Prostata hinweisen.

So kann im Hinblick auf dieses Ergebnis und in Anlehnung an die Humanmedizin (SKANDHAN und MAZUMDAR 1981) darauf geschlossen werden, dass das Kalium eine diagnostische Relevanz bezüglich der Fertilität besitzt und weiterführende Untersuchungen erforderlich sind. Beim Mann können veränderte

Kaliumkonzentrationen im Seminalplasma zu Beeinträchtigungen der Spermienmotilität und -vitalität führen (SKANDHAN und MAZUMDAR 1981).

Die Calciumkonzentrationen in der caninen Samenflüssigkeit sind im Vergleich zu den Natriumkonzentrationen deutlich geringer (WALES und WHITE 1965). Dieses Ergebnis kann in der eigenen Untersuchung bestätigt werden.

In der Literatur konnten folgende Calciumkonzentrationen im caninen Seminalplasma gefunden werden:  $1,0 \pm 4,0$  mmol/l (SCHÄFER-SOMI et al. 2011), 1,2 mmol/l (MANN und LUTWAK-MANN 1981),  $0,1996 \pm 0,1497$  mmol/l ( $0,80 \pm 0,60$  mg/dl) (DE SOUZA et al. 2006),  $0,435 \pm 0,03$  mmol/l ( $0,87 \pm 0,06$  mEq/l) (GUANY et al. 2003). Darüber hinaus konnten ENGLAND und ALLEN (1989) Konzentrationen von 0,155 mmol/l (0,31 mEq/l) verzeichnen.

Die angegebenen Werte der Literatur unterscheiden sich nur geringfügig von den eigenen Untersuchungen. Die Fraktionen 2 und 3 dokumentierten vergleichbare Ergebnisse.

Die Präsenz einer abnormen Calciumkonzentration kann zu Beeinträchtigungen der Spermatogenese führen, was insbesondere die Produktion, Maturation, Motilität und die Befruchtungsfähigkeit der Spermien betrifft (ABOU-SHAKRA et al. 1989, WONG et al. 2001).

Im Gruppenvergleich Patho- und Normospermie der vorliegenden Arbeit konnten signifikante Unterschiede ( $p = 0,036$ ) in der 1. Fraktion dokumentiert werden. Die Gruppe Pathospermie zeigte niedrigere Konzentrationen.

Vergleichbare Ergebnisse ermittelte die Arbeitsgruppe von ÇEVİK et al. (2007) beim Bullen. So werteten sie in ihrer Studie das Seminalplasma von Normozoospermie und Oligoasthenozoospermie aus. Vergleichend zu der vorliegenden Studie konnten ebenfalls statistisch signifikante Unterschiede aufgezeigt werden. Zu beachten ist jedoch, dass die Auswertungen von ÇEVİK et al. (2007) anhand des Gesamtejakulats vorgenommen wurden und keine Auftrennung in Fraktionen erfolgte.

In der Humanmedizin konnte ein Zusammenhang zwischen Calciumkonzentration und Spermienmotilität belegt werden (PRIEN et al. 1990). Ejakulate mit Hypomotilität zeigten niedrigere Calciumkonzentrationen als Ejakulate mit physiologischer Motilität. LOGOGLU et al. (1997) konnten hingegen keine Korrelation zwischen Calciumkonzentration und Spermamotilität belegen. Ob ursächlich für das

vorliegende Ergebnis eine Korrelation zur Motilität in Betracht gezogen werden kann, erfordert weiterführende Untersuchungen.

Die 1. und die 3. Fraktion des caninen Ejakulats (ENGLAND und ALLEN 1990) sowie das Calcium (DE SOUZA et al. 2006) entstammen der Prostata. Da jedoch die 3. Fraktion des caninen Ejakulats zur Diagnostik von Prostataerkrankungen in Betracht gezogen wird (DREIER 2005) und in der vorliegenden Arbeit keine statistisch signifikanten Unterschiede in der 3. Fraktion erwiesen werden konnten, scheint eine Funktionsstörung oder Prostataerkrankung als kausale Ursache des vorliegenden Ergebnisses unwahrscheinlich zu sein.

Das Mengenelement Magnesium agiert als ein intrazellulärer und physiologischer Calcium-Antagonist (ABOU-SHAKRA et al. 1989, FAWCETT et al. 1999). In der 1. Fraktion der eigenen Untersuchungen konnte eine Tendenz ( $p = 0,057$ ) der Magnesiumkonzentration zu statistisch signifikanten Unterschieden verzeichnet werden. In Anlehnung an die Aussagen von ABOU-SHAKRA et al. (1989) und FAWCETT et al. (1999) können die statistisch signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Calciumkonzentrationen ursächlich auf den bestehenden Antagonismus zurückgeführt werden. Um dieses Ergebnis verifizieren zu können und da abschließend die Ursache für die bestehende Diskrepanz unklar bleibt, sind weiterführende Untersuchungen erforderlich.

Die Magnesiumkonzentrationen im caninen Seminalplasma liegen im Vergleich zu den Natriumkonzentrationen im niedrigeren Bereich (WALES und WHITE 1965). Dieses Ergebnis kann in den eigenen Untersuchungen bestätigt werden.

Im caninen Ejakulat verzeichneten MANN und LUTWAK-MANN (1981) Magnesiumkonzentrationen von 1,5 mmol/l. GUNAY et al. (2003) dokumentieren Konzentrationen von  $0,925 \pm 0,155$  mmol/l ( $1,85 \pm 0,31$  mEq/l) in der 2. Fraktion. Die eigenen Messungen gehen mit den Werten von GUNAY et al. (2003) konform und weichen nur minimal von den Werten von MANN und LUTWAK-MANN (1981) ab. Im Vergleich der einzelnen Ejakulatfraktionen konnten in den eigenen Untersuchungen höhere Konzentrationen in der 3. Fraktion ermittelt werden. Da die 3. Fraktion des caninen Ejakulats der Prostata entstammt, deutet das vorliegende Ergebnis darauf hin, dass das Magnesium hauptsächlich dieser akzessorischen Geschlechtsdrüse entstammt.

Dem Mengenelement Magnesium werden entscheidende Funktionen an biologischen Prozessen, Enzymreaktionen und der Ejakulation zugeschrieben (OMU et al. 2001). Darüber hinaus können sich beim Mann drastische Konzentrationserniedrigungen in Fruchtbarkeitsstörungen äußern (EDORH et al. 2003).

In der vorliegenden Arbeit konnten keine statistischen Unterschiede zwischen den Gruppen Normo- und Pathospermie dokumentiert werden. Dies deutet darauf hin, dass im Gegensatz zur Humanmedizin (EDORH et al. 2003) die Magnesiumkonzentrationen keine Bedeutung hinsichtlich der Fertilität besitzen. Andererseits konnte in der 1. Fraktion eine Tendenz ( $p = 0,057$ ) zu statistisch signifikanten Unterschieden verzeichnet werden. Dies würde die Hypothese von OMU et al. (2001) bestätigen. Daher sollte in weiterführenden Untersuchungen die diagnostische Relevanz in Bezug auf die Spermienfunktion überprüft werden.

Über die Bedeutung und Funktion des Phosphats im caninen Seminalplasma ist wenig bekannt. Laut WALES und WHITE (1965) befindet sich beim Rüden die höchste Phosphatkonzentration in der 2. Fraktion. Im Vergleich zu den eigenen Ergebnissen kann dies bestätigt werden. Ein testikulärer Ursprung des Mengenelements kann in Betracht gezogen werden.

Im caninen Seminalplasma ermittelten SCHÄFER-SOMI et al. (2011) eine Phosphatkonzentration von  $0,8 \pm 0,5$  mmol/l in der 2. Ejakulationsfraktion. Die eigenen Ergebnisse bestätigen diese Werte.

Des Weiteren konnten im Gruppenvergleich Normo- und Pathospermie keine statistisch signifikanten Unterschiede dokumentiert werden. Die ermittelten Konzentrationen unterscheiden sich zwischen den drei Fraktionen nur minimal. Infolgedessen kann darauf geschlossen werden, dass das Mengenelement keinen diagnostischen Wert für die Fertilitätsbestimmung beim Hund besitzt.

Zink hat eine bedeutende Funktion für die Physiologie der Spermatozoen und gilt in der Humanmedizin als wichtiger Indikator der Fertilität (CHIA et al. 2000). So soll sich Zink im Seminalplasma membranstabilisierend auswirken (CALDAMONE et al. 1979). Des Weiteren können sich Zinkdefizite in Funktionsstörungen der testikulären Entwicklung und der Spermatogenese äußern (CIGANKOVA et al. 1994, CIGANKOVA et al. 1998). FARRELL und LYMAN (1937) berichten zudem über die

antibakterielle Wirkung des Mengenelements im humanen Seminalplasma. Die Konzentrationen im humanen Seminalplasma liegen mit 2 mM im deutlich höheren Bereich als im Serum (COLAGAR et al. 2009).

Dennoch werden die Auswirkungen des Zinkgehalts auf die Fruchtbarkeit kontrovers diskutiert. So belegen einerseits Studien aus der Humanmedizin statistisch signifikante Unterschiede hinsichtlich der Zinkkonzentrationen zwischen fertilen und infertilen Männern (MANKAD et al. 2006, CHIA et al. 2000, ZHAO und XIONG 2005), außerdem konnte eine negative Korrelation zwischen den Zinkkonzentrationen und der Spermaqualität sowie der Befruchtungsfähigkeit nachgewiesen werden (CALDAMONE et al. 1979, MARMAR et al. 1975). Andererseits konnten andere Autoren keine statistisch signifikanten Unterschiede bezüglich der Zinkkonzentration zwischen fertilen und infertilen Männern dokumentieren (WONG et al. 2001).

Der größte ungebundene Teil dieses Elements stammt beim Hund aus der Prostata (MANN 1964). Die vorliegenden Untersuchungen können diese Aussage nicht bestätigen, da in allen 3 Ejakulatfraktionen vergleichbare Konzentrationen nachweisbar waren. Daher kann angenommen werden, dass das Spurenelement primär der Prostata und den Hoden entstammt.

Im caninen Seminalplasma sind die Konzentrationen und die Funktion von Zink noch weitgehend ungeklärt. SCHÄFER-SOMI et al. (2011) konnten eine Konzentration von  $1191,87 \pm 1100,07 \mu\text{mol/l}$  ( $77.9 \pm 71.9 \text{ mg/l}$ ) verzeichnen. Ähnliche Werte von  $1220 \mu\text{mol/l}$  (1,22 mM) wurden bereits früher veröffentlicht (MANN und LUTWAK-MANN 1981).

Die Zinkkonzentrationen weichen in den eigenen Untersuchungen deutlich von den Werten in den vorangegangenen Studien ab. Die in der vorliegenden Studie gemessenen Konzentrationen liegen deutlich niedriger. Eine Erklärung für diese Diskrepanz könnte ursächlich auf das verwendete Material zurückzuführen sein. So wertete die Arbeitsgruppe von SCHÄFER-SOMI et al. (2011) Proben von insgesamt 13 Rüden aus. Die Probanden zeigten dabei keine Symptomatik einer Fruchtbarkeitsstörung und es wurde ausschließlich die spermienreiche 2. Fraktion ausgewertet. Genauere Informationen zum Probenmaterial von MANN und LUTWAK-MANN (1981) liegen nicht vor. Des Weiteren bleibt letztlich ungewiss, ob das Tiefgefrieren und die zwischenzeitliche Lagerung der Proben einen Einfluss auf die finalen Konzentrationen hatten.

Da die Ursache für diese Diskrepanz abschließend unklar bleibt, sind weiterführende Untersuchungen erforderlich. In anschließenden Studien sollte ergänzend geprüft werden, ob eine Korrelation zwischen dem Zinkgehalt im Seminalplasma und dem Blut beim Rüden besteht.

Trotz der Diskrepanz zwischen den eigenen Ergebnissen und der Literatur konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede der Zinkkonzentration zwischen den Gruppen Normo- und Pathospermie verzeichnet werden. Alle mittleren Konzentrationen zeigten in den einzelnen Fraktionen einheitliche Werte zwischen den beiden Gruppen.

Kupfer besitzt vielfältige Funktionen und Aufgaben. So ist es beteiligt an Enzymreaktionen, Oxidations- und Reduktionsprozessen und der Hämatopoese (ROUS und JELINEK 2000).

In der humanen Andrologie wird Kupfer eine Bedeutung hinsichtlich der Fertilität zugeschrieben (HUANG et al. 2000). So dokumentierten EIDI et al. (2010) im humanen Seminalplasma höhere Kupferkonzentrationen in den Gruppen Azoospermie, Oligozoospermie und Asthenozoospermie verglichen mit der Gruppe Normospermie. Die eigenen Untersuchungen bestätigen diese Aussagen, da in der vorliegenden Studie ebenfalls höhere Konzentrationen in den Gruppen Pathospermie gemessen werden konnte. So wurden zwischen den Gruppen Normo- und Pathospermie statistisch signifikante Unterschiede dokumentiert. Die statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen betreffen die 2. und 3. Fraktion.

Laut EIDI et al. (2010) korrelieren hohe Konzentrationen von Kupfer im Seminalplasma mit einer verminderten Spermienmotilität. Dies konnte auch für das canine Seminalplasma dokumentiert werden (JAMES et al. 1979).

Die in der vorliegenden Arbeit verzeichneten statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen könnten ein Hinweis für die Aussagen der Literatur (JAMES et al. 1979, EIDI et al. 2010) sein.

AYDEMIR et al. (2006) berichten vom Zusammenhang zwischen erhöhten Kupferkonzentrationen im Seminalplasma und einer erhöhten Bildung von ROS (Reactive oxygen species, reaktive Sauerstoffspezies). ROS sind aktive Moleküle, die während der Sauerstoffreduktion gebildet werden. Abnorme Konzentrationen von ROS haben schädliche Einflüsse auf die Funktion und Lebensfähigkeit der Spermien



(DE LAMIRANDE und GAGNON 1995, AITKEN 1999, SALEH und AGARWALL 2002).

CASSANI et al. (2005) konnten im caninen Seminalplasma eine Enzymaktivität der Superoxid-Dismutase zum Schutz gegen schädliche Einflüsse der ROS nachweisen. Kupferabhängige Superoxid-Dismutasen sind bekannt (LEONHARD-MAREK 2001). Allgemein gibt LEONHARD-MAREK (2001) an, dass erhöhte Kupferkonzentrationen in der Umgebung die oxidativen Prozesse und den Glucoseverbrauch der Spermien reduzieren, was wiederum zu einer partiellen oder völligen Unbeweglichkeit der Spermien führen kann. Ebenfalls können erhöhte Konzentrationen die Akrosomenreaktion und die Penetrationsrate von Zona-freien Oozyten beeinträchtigen.

Ob Kupfer eine Funktion als Indikator für oxidative Schäden besitzt und ob eine Korrelation zur Motilität besteht, sollte in weiterführenden Studien untersucht werden. In der 2. und 3. Ejakulatfraktion konnten in der vorliegenden Arbeit vergleichbare Konzentrationen nachgewiesen werden. Dies deutet darauf hin, dass neben den Hoden auch die Prostata an der Freisetzung des Kupfers beteiligt ist.

Im caninen Seminalplasma verzeichneten SCHÄFER-SOMI et al. (2011) Kupferkonzentrationen von  $94,36 \pm 100,736 \mu\text{mol/l}$  ( $6,1 \pm 6,4 \text{ mg/l}$ ). Die Arbeitsgruppe MANN und LUTWAK-MANN (1981) dokumentierte eine Konzentration von  $70 \mu\text{mol/l}$ .

Die Konzentrationen der eigenen Untersuchung liegen unter den Angaben der Literatur (SCHÄFER-SOMI et al. 2011, MANN und LUTWAK-MANN 1981). Eine Erklärung für diese Diskrepanz könnte ursächlich auf das verwendete Material beziehungsweise die statistische Signifikanz zurückzuführen sein. So wertete die Arbeitsgruppe von SCHÄFER-SOMI et al. (2011) Proben von nur 13 Rüden aus. Die Probanden zeigten keine Symptomatik einer Fruchtbarkeitsstörung und es wurde ausschließlich die spermienreiche 2. Fraktion ausgewertet. Das verwendete Probenmaterial von MANN und LUTWAK-MANN (1981) ist nicht bekannt. Die Kupferkonzentrationen im caninen Seminalplasma der vorliegenden Arbeit zeigen deutliche Hinweise auf die Relevanz des Elementes in der Funktion der Spermien. Weiterführende Untersuchungen scheinen jedoch erforderlich zu sein.

Eisen wird für die Entwicklung der Gameten während der Spermatogenese benötigt (LEONHARD-MAREK 2001). In der Humanmedizin konnten Zusammenhänge

zwischen Fruchtbarkeitsstörungen und erhöhten Eisenkonzentrationen dokumentiert werden (AYDEMIR et al. 2006).

Über die Funktion des Eisens im caninen Seminalplasma ist wenig bekannt.

MANN und LUTWAK-MANN (1981) geben eine Eisenkonzentration von 10  $\mu\text{mol/l}$  im caninen Seminalplasma an. Die in den eigenen Untersuchungen dokumentierten Konzentrationen liegen in einem niedrigeren Bereich. Um welche Fraktion, Probenanzahl und Methode es sich bei den Ergebnissen von MANN und LUTWAK-MANN (1981) handelt, ist nicht bekannt.

Die Konzentrationen des Eisens unterscheiden sich zwischen den drei Ejakulationsfraktionen nur minimal. Dies kann ein Hinweis darauf sein, dass das Spurenelement sowohl den Hoden sowie der Prostata entstammt.

Da im Gruppenvergleich keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen Normo- und Pathospermie dokumentiert werden konnten, lässt sich darauf schließen, dass das Spurenelement keine Bedeutung in Bezug auf Fertilität besitzt.

### 5.4 Schlussbetrachtung

Die vorliegenden Ergebnisse dieser Arbeit geben Hinweise auf die biochemische Zusammensetzung des caninen Seminalplasmas. Eine vollständige Abhandlung der Komposition bedarf weiterer Untersuchungen. Darüber hinaus sollte geprüft werden, ob es rassespezifische und altersspezifische Unterschiede in der Zusammensetzung des caninen Seminalplasmas gibt. Die teilweise widersprüchlichen Aussagen in der Literatur zur Korrelation biochemischer Komponenten des Seminalplasmas und der Fertilität deuten darauf hin, dass es eine Vielzahl von Einflussfaktoren auf diese Parameter gibt.

Des Weiteren sollte überprüft werden, inwieweit sich Konzentrationsänderungen im caninen Seminalplasma auf die Funktion der Samenzellen auswirken.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass es signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen Normo- und Pathospermie im caninen Seminalplasma hinsichtlich der Konzentrationen von Calcium, Kupfer, Kalium und der Aktivität der Alkalischen Phosphatase gibt.

Dabei ist allerdings zu beachten, dass in der vorliegenden Arbeit die Probanden dem Oberbegriff Pathospermie ohne weitere Differenzierung der Pathospermieformen zugeordnet wurden. Eine solche Differenzierung aber sollte in anschließenden Arbeiten in Betracht gezogen werden.

## 6 Zusammenfassung

Die Ejakulatuntersuchung ist seit vielen Jahren ein fester Bestandteil der assistierten Reproduktionsmedizin beim Haushund und wird insbesondere zur Überprüfung der Fertilität in Betracht gezogen. Diverse Forschungsarbeiten konnten belegen, dass die biochemische Zusammensetzung des Seminalplasmas einen entscheidenden Einfluss auf die Fertilität besitzt. Dennoch wird diese Komponente des Ejakulats im Rahmen einer Fertilitätskontrolle kaum beachtet. In der Literatur gibt es nur einzelne Hinweise über die Enzymaktivitäten und Konzentrationen an Mengen- und Spurenelementen im caninen Seminalplasma bei Normo- oder Pathospermie.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es daher, die Aktivitäten der verschiedenen Enzyme und Konzentrationen an Mengen- und Spurenelemente in den einzelnen drei Ejakulatfraktionen des Seminalplasmas zu bestimmen. Des Weiteren sollte untersucht werden, inwieweit sich signifikante Unterschiede in Ejakulaten mit Normo- oder Pathospermie ergeben.

Hierzu standen insgesamt Ejakulate von 50 Rüden unterschiedlicher Rassen mit einem Lebensalter von ein bis zehn Jahren zur Verfügung. Aufgrund der Ejakulatbeschaffenheit wurden die Probanden in zwei Gruppen eingeteilt. Die Gruppe Normospermie bestand aus 20 Tieren, in der Gruppe Pathospermie befanden sich 30 Tiere.

Da die Gewinnung der Proben über einen längeren Zeitraum erfolgte, wurde das Seminalplasma bei einer Temperatur von  $-20\text{ °C}$  tiefgefroren. So war es ein weiteres Ziel der eigenen Studie, die Auswirkungen des Tiefgefrierprozesses auf die Enzymaktivitäten im caninen Seminalplasma zu überprüfen. Dazu standen insgesamt Proben von 16 Rüden zur Verfügung, die jeweils am 0., 1., 7. und 30. Tag getrennt nach den einzelnen drei Ejakulatfraktionen ausgewertet wurden, wobei die Probe von Tag 0 nicht eingefroren wurde.

Die Gewinnung der Proben erfolgte mittels manueller Stimulation. Im Anschluss wurde eine grobsinnliche Prüfung des Ejakulates durchgeführt und das Seminalplasma durch Zentrifugation des Samens gewonnen.

In Bezug auf die biochemische Zusammensetzung des Seminalplasmas wurden die Enzymaktivitäten der Alkalischen Phosphatase, Sauren Phosphatase, nicht-prostataspezifischen Sauren Phosphatase, Aspartat-Amino-Transferase, Gamma-

Glutamyl-Transferase und Laktatdehydrogenase sowie die Konzentrationen der Mengenelemente Natrium, Kalium, Calcium (gesamt), Magnesium und anorganisches Phosphat sowie die Spurenelemente Zink (gesamt), Kupfer (gesamt) und Eisen (gesamt) ermittelt.

Die photometrische Bestimmung von Magnesium, anorganischem Phosphat, Kupfer, Zink und Eisen sowie die Bestimmung der Enzymaktivitäten erfolgte mittels Spektralphotometrie. Mittels Flammenphotometrie wurden die Mengenelemente Natrium, Kalium und Calcium bestimmt.

Die Ergebnisse der Enzymaktivitäten zeigen im Vorversuch statistisch signifikante Unterschiede zwischen dem Tag 0 und dem Tag 30. Jedoch dokumentierten sämtliche Enzyme an Tag 0 verglichen mit Tag 1 nur minimale Verringerungen in der Aktivität. So lässt der vorliegende Versuch darauf schließen, dass die Methode des Einfrier- und Auftauprozesses bei der Interpretation der Ergebnisse des Hauptversuches berücksichtigt werden muss, allerdings die Beeinflussung nur geringgradige Auswirkungen auf die Ergebnisse besitzt.

Folgende relevanten Ergebnisse konnten im Hauptversuch erhoben werden:

- Die Alkalische Phosphatase, Aspartat-Amino-Transferase, Gamma-Glutamyl-Transferase und Laktatdehydrogenase zeigten in der 2. Fraktion die höchsten Aktivitäten.
- Die Saure Phosphatase und die nicht-prostataspezifische Saure Phosphatase wiesen in den Fraktionen 2 und 3 vergleichbare Aktivitäten auf.
- Das Mengenelement Natrium zeigte in der zweiten Fraktion die niedrigste Aktivität
- Die Konzentrationen von Kalium, Calcium und Kupfer waren in der 2. und 3. Fraktion vergleichbar.
- Die Magnesiumkonzentration war in der 3. Fraktion am höchsten.
- Die Phosphatkonzentrationen zeigten im Vergleich der drei Ejakulatfraktionen höhere Werte in der 2. Fraktion.
- Im Gruppenvergleich Normo- und Pathospermie konnten statistisch signifikante Unterschiede ( $p = 0,036$ ) in der 1. Fraktion bezüglich der Gesamtcalciumkonzentrationen dokumentiert werden. Die Gruppe Pathospermie verzeichnete niedrigere Konzentrationen.

- Im Gruppenvergleich Normo- und Pathospermie konnten statistisch signifikante Unterschiede der Kupferkonzentrationen in der 2. Fraktion ( $p = 0,001$ ) und in der 3. Fraktion ( $p = 0,027$ ) dokumentiert werden. Die Gruppe Pathospermie verzeichnete höhere Konzentrationen.
- Im Gruppenvergleich Normo- und Pathospermie konnten statistisch signifikante Unterschiede der Enzymaktivität der Alkalischen Phosphatase ( $p = 0,045$ ) in der 3. Fraktion dokumentiert werden. Die Gruppe Pathospermie verzeichnete niedrigere Aktivitäten.
- Im Gruppenvergleich Normo- und Pathospermie konnten in der 3. Fraktion statistisch signifikante Unterschiede ( $p = 0,002$ ) in der Kaliumkonzentrationen dokumentiert werden. Die Gruppe Pathospermie wies niedrigere Werte auf.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen differierende Aktivitäten und Konzentrationen der Enzyme und Mengen- und Spurenelemente in den einzelnen drei Fraktionen. So kann auf eine unterschiedliche Beteiligung der Genitalorgane an der Freisetzung der untersuchten Parameter geschlossen werden. Ob es rassespezifische und altersspezifische Unterschiede in der Zusammensetzung des caninen Seminalplasmas gibt, sollte Ziel zukünftiger Untersuchungen sein.

Des Weiteren konnten die vorliegenden Ergebnisse signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen Normo- und Pathospermie hinsichtlich der Konzentrationen von Kupfer, Kalium, Calcium und der Aktivitäten der Alkalischen Phosphatase dokumentieren.

So können Abweichungen der biochemischen Zusammensetzung des Seminalplasmas im Zusammenhang mit Störungen oder Erkrankungen der akzessorischen Geschlechtsdrüsen und damit ursächlich zu Beeinträchtigungen der Fertilität im Zusammenhang stehen.

## 7 Summary

Semen analysis is an integral part of assisted reproduction in the dog and is used for examination of fertility. Several publications verified that biochemical components of the seminal plasma have an important influence on fertility. However, these biochemical parameters are usually not assessed in case of fertility control. Little information has so far been published on enzyme activities and concentrations of macro- and microelements in the canine seminal plasma in case of normospermia or pathospermia.

The aim of the present thesis was to determine activities of the different enzymes and concentrations of macro- and microelements in the seminal plasma of the three ejaculate fractions of the dog. Furthermore, the aim was to determine whether significant differences exist between ejaculates with normo- or pathospermia.

Ejaculates of 50 different dogs of different breeds aged 1-10 years were examined. The ejaculates were grouped according to semen quality: The group normospermia consisted of 20 dogs, the group pathospermia of 30 males. As samples were obtained during a longer period of time, the seminal plasma was frozen at -20 °C. Another aim of this study was to assess the influence of freezing on the activities of enzymes present in the canine seminal plasma. Therefore, seminal plasma samples obtained from 16 males were examined on day 0, 1, 7 and 30, differentiating the three ejaculate fractions. Samples of day 0 were not frozen.

Semen samples were obtained by manual masturbation. The ejaculates were examined and the seminal plasma was obtained by centrifugation of semen.

The following parameters were examined in the seminal plasma: the enzyme activities of Alkaline Phosphatase, Acid Phosphatase, non-prostate specific Acid Phosphatase, Aspartate-Amino-Transferase, Gamma-Glutamyl-Transferase, Lactate Dehydrogenase as well as the concentrations of sodium, potassium, calcium (total), magnesium and inorganic phosphate, the trace elements zinc (total), copper (total) and iron (total).

The photometrical determination of magnesium, inorganic phosphorus, copper, zinc and iron as well as the determination of enzyme activities was done by spectrophotometry. Flame photometry was used to determine concentrations of sodium, potassium and calcium.

In the pretest, enzyme activities were significantly different on day 0 and 30 after freezing. Comparing day 1 with day 0, enzyme activities were only slightly reduced. We concluded from the pretest that freezing and thawing of seminal plasma samples in the main experiment has to be considered for interpretation of results; however, only a slight influence of this procedure on the results has to be expected.

The following relevant results were found in the main experiment:

- Alkaline Phosphatase, Aspartate-Amino-Transferase, Gamma-Glutamyl-Transferase and Lactate Dehydrogenase were highest in the second fraction of the ejaculate.
- Acid Phosphatase and non-prostate specific Acid Phosphatase have similar activities in the second and third fraction.
- Sodium concentrations were lowest in the second fraction.
- Potassium, calcium and copper concentrations were similar in the second and third fraction.
- Magnesium concentrations were highest in the third fraction.
- Phosphate concentrations were highest in the second fraction.
- Comparing normospermia and pathospermia, significant differences were found in the first fraction for total calcium concentrations ( $p = 0,036$ ) with lower concentrations in case of pathospermia.
- Comparing normospermia and pathospermia, significant differences were found for copper concentrations in the second ( $p = 0,001$ ) and third fraction ( $p = 0,027$ ) with higher concentrations in case of pathospermia.
- Comparing normospermia and pathospermia, significant differences were found for activity of the Alkaline Phosphatase ( $p = 0,045$ ) in the third fraction with lower activities in case of pathospermia.
- Comparing normospermia and pathospermia, significant differences were found for total calcium concentrations ( $p = 0,002$ ) with lower concentrations in case of pathospermia.

The results of this study show different enzyme activities and element concentrations in the seminal plasma of the three fractions of the canine ejaculate. This indicates a different involvement of the sexual glands in the release of the examined parameters.

Future studies are necessary to determine if there is a breed or age specificity in the composition of seminal plasma.

Besides, the present results document significant differences for concentrations of copper, potassium, calcium and the activity of the Alkaline Phosphatase.

We conclude that deviations of the biochemical composition of the seminal plasma may be related to dysfunction or diseases of the sexual glands and therefore could be related to sub- or infertility.



## 8 Anhang

### 8.1 Ergebnisse Hauptversuch

#### 8.1.1 Ergebnisse der Enzymaktivitäten

Tabelle 40: Ergebnisse der mittels Spektralphotometer gemessenen Enzymaktivität in Fraktion 1 (n = 39). Dargestellt sind die Aktivitäten (U/l) der Alkalischen Phosphatase (AP), Sauren Phosphatase (SP) und nicht-prostataspezifischen Sauren Phosphatase (NSP) der Rüden 1 - 16.

\* = kein Probenmaterial vorhanden

Gruppe 1 = Normospermie

Gruppe 2 = Pathospermie

Rüde	Fraktion	AP	SP	NSP	Gruppe
1	1	2300,00	450,00	90,00	1
2	1	700,00	135,00	45,00	2
3	1	*	*	*	
4	1	5800,00	315,00	90,00	2
5	1	44,00	675,00	135,00	2
6	1	*	*	*	
7	1	2300,00	90,00	45,00	1
8	1	*	*	*	
9	1	200,00	270,00	45,00	2
10	1	9300,00	1035,00	270,00	2
11	1	19200,00	1620,00	450,00	2
12	1	200,00	225,00	45,00	2
13	1	3600,00	450,00	135,00	2
14	1	6400,00	990,00	180,00	2
15	1	100,00	270,00	45,00	2
16	1	6600,00	90,00	0,00	2

Tabelle 41: Ergebnisse der mittels Spektralphotometer gemessenen Enzymaktivität in Fraktion 1 (n = 39). Dargestellt sind die Aktivitäten (U/l) der Alkalischen Phosphatase (AP), Sauren Phosphatase (SP) und nicht-prostataspezifischen Sauren Phosphatase (NSP) der Rüden 17 - 33.

\* = kein Probenmaterial vorhanden

Gruppe 1 = Normospermie

Gruppe 2 = Pathospermie

Rüde	Fraktion	AP	SP	NSP	Gruppe
17	1	*	*	*	
18	1	100,00	495,00	135,00	1
19	1	2600,00	450,00	90,00	1
20	1	200,00	900,00	225,00	2
21	1	500,00	135,00	45,00	1
22	1	5800,00	1395,00	360,00	2
23	1	600,00	1440,00	315,00	2
24	1	19,00	675,00	225,00	1
25	1	1417,00	1035,00	315,00	2
26	1	600,00	1170,00	270,00	2
27	1	9000,00	2745,00	675,00	2
28	1	*	*	*	
29	1	25500,00	1440,00	360,00	2
30	1	100,00	1080,00	1035,00	1
31	1	6000,00	137,25	50,40	2
32	1	*	*	*	
33	1	100,00	495,00	135,00	2

Tabelle 42: Ergebnisse der mittels Spektralphotometer gemessenen Enzymaktivität in Fraktion 1 (n = 39). Dargestellt sind die Aktivitäten (U/l) der Alkalischen Phosphatase (AP), Sauren Phosphatase (SP) und nicht-prostataspezifischen Sauren Phosphatase (NSP) der Rüden 34 - 50.

\* = kein Probenmaterial vorhanden

Gruppe 1 = Normospermie

Gruppe 2 = Pathospermie

Rüde	Fraktion	AP	SP	NSP	Gruppe
34	1	200,00	1665,00	450,00	1
35	1	419,00	1575,00	405,00	1
36	1	100,00	360,00	90,00	1
37	1	1000,00	315,00	90,00	2
38	1	*	*	*	
39	1	600,00	90,00	45,00	1
40	1	600,00	225,00	45,00	2
41	1	100,00	540,00	135,00	2
42	1	300,00	1260,00	360,00	2
43	1	300,00	90,00	45,00	2
44	1	300,00	135,00	45,00	1
45	1	10600,00	540,00	135,00	1
46	1	*	*	*	
47	1	7600,00	315,00	90,00	1
48	1	*	*	*	
49	1	*	*	*	
50	1	*	*	*	

Tabelle 43: Ergebnisse der mittels Spektralphotometer gemessenen Enzymaktivität in Fraktion 2 (n = 50). Dargestellt sind die Aktivitäten (U/l) der Alkalischen Phosphatase (AP), Sauren Phosphatase (SP) und nicht-prostataspezifischen Sauren Phosphatase (NSP) der Rüden 1 - 16.

\* = kein Probenmaterial vorhanden

Gruppe 1 = Normospermie

Gruppe 2 = Pathospermie

<b>Rüde</b>	<b>Fraktion</b>	<b>AP</b>	<b>SP</b>	<b>NSP</b>	<b>Gruppe</b>
1	2	92700,00	1350,00	360,00	1
2	2	77700,00	855,00	225,00	2
3	2	800,00	315,00	90,00	2
4	2	127300,00	3510,00	900,00	2
5	2	23100,00	990,00	270,00	2
6	2	35200,00	135,00	180,00	1
7	2	16500,00	225,00	90,00	1
8	2	198200,00	2340,00	585,00	2
9	2	104100,00	900,00	225,00	2
10	2	32900,00	1260,00	315,00	2
11	2	21400,00	180,00	45,00	2
12	2	63400,00	855,00	225,00	2
13	2	11200,00	675,00	180,00	2
14	2	31000,00	495,00	90,00	2
15	2	64900,00	1575,00	360,00	2
16	2	64500,00	1530,00	360,00	2

Tabelle 44: Ergebnisse der mittels Spektralphotometer gemessenen Enzymaktivität in Fraktion 2 (n = 50). Dargestellt sind die Aktivitäten (U/l) der Alkalischen Phosphatase (AP), Sauren Phosphatase (SP) und nicht-prostataspezifischen Sauren Phosphatase (NSP) der Rüden 17 - 33.

\* = kein Probenmaterial vorhanden

Gruppe 1 = Normospermie

Gruppe 2 = Pathospermie

Rüde	Fraktion	AP	SP	NSP	Gruppe
17	2	121800,00	1035,00	315,00	2
18	2	76500,00	1665,00	405,00	1
19	2	24500,00	3330,00	855,00	1
20	2	40800,00	1530,00	360,00	2
21	2	56300,00	225,00	90,00	1
22	2	40300,00	1935,00	495,00	2
23	2	104600,00	2700,00	675,00	2
24	2	49000,00	1395,00	180,00	1
25	2	45200,00	3825,00	270,00	2
26	2	27500,00	4860,00	1260,00	2
27	2	58600,00	765,00	180,00	2
28	2	34300,00	1260,00	315,00	2
29	2	110500,00	900,00	270,00	2
30	2	10400,00	3915,00	585,00	1
31	2	139400,00	109,35	119,25	2
32	2	26700,00	495,00	89,55	1
33	2	84700,00	3375,00	855,00	2

Tabelle 45: Ergebnisse der mittels Spektralphotometer gemessenen Enzymaktivität in Fraktion 2 (n = 50). Dargestellt sind die Aktivitäten (U/l) der Alkalischen Phosphatase (AP), Sauren Phosphatase (SP) und nicht-prostataspezifischen Sauren Phosphatase (NSP) der Rüden 34 - 50.

\* = kein Probenmaterial vorhanden

Gruppe 1 = Normospermie

Gruppe 2 = Pathospermie

Rüde	Fraktion	AP	SP	NSP	Gruppe
34	2	17500,00	3915,00	1035,00	1
35	2	49800,00	2835,00	720,00	1
36	2	94200,00	1755,00	450,00	1
37	2	91300,00	2385,00	585,00	2
38	2	54900,00	180,00	45,00	1
39	2	1400,00	1935,00	540,00	1
40	2	16800,00	1575,00	405,00	2
41	2	20900,00	720,00	180,00	2
42	2	51100,00	360,00	90,00	2
43	2	104400,00	1125,00	270,00	2
44	2	63400,00	1215,00	270,00	1
45	2	113400,00	3465,00	900,00	1
46	2	21200,00	495,00	90,00	1
47	2	67800,00	2250,00	540,00	1
48	2	31300,00	360,00	90,00	1
49	2	37300,00	1305,00	315,00	2
50	2	67400,00	1035,00	270,00	1

Tabelle 46: Ergebnisse der mittels Spektralphotometer gemessenen Enzymaktivität in Fraktion 3 (n = 50). Dargestellt sind die Aktivitäten (U/l) der Alkalischen Phosphatase (AP), Sauren Phosphatase (SP) und nicht-prostataspezifischen Sauren Phosphatase (NSP) der Rüden 1 - 16.

\* = kein Probenmaterial vorhanden

Gruppe 1 = Normospermie

Gruppe 2 = Pathospermie

Rüde	Fraktion	AP	SP	NSP	Gruppe
1	3	600,00	1080,00	270,00	1
2	3	600,00	360,00	90,00	2
3	3	1100,00	1305,00	315,00	2
4	3	600,00	2025,00	495,00	2
5	3	129,00	450,00	135,00	2
6	3	800,00	1800,00	450,00	1
7	3	100,00	1215,00	315,00	1
8	3	900,00	2295,00	585,00	2
9	3	1300,00	1845,00	450,00	2
10	3	600,00	1665,00	405,00	2
11	3	200,00	1080,00	270,00	2
12	3	100,00	855,00	270,00	2
13	3	39,00	135,00	45,00	2
14	3	106,00	765,00	180,00	2
15	3	300,00	1890,00	495,00	2
16	3	100,00	1125,00	270,00	2

Tabelle 47: Ergebnisse der mittels Spektralphotometer gemessenen Enzymaktivität in Fraktion 3 (n = 50). Dargestellt sind die Aktivitäten (U/l) der Alkalischen Phosphatase (AP), Sauren Phosphatase (SP) und nicht-prostataspezifischen Sauren Phosphatase (NSP) der Rüden 17 - 33.

\* = kein Probenmaterial vorhanden

Gruppe 1 = Normospermie

Gruppe 2 = Pathospermie

Rüde	Fraktion	AP	SP	NSP	Gruppe
17	3	600,00	1035,00	270,00	2
18	3	600,00	765,00	180,00	1
19	3	100,00	1890,00	495,00	1
20	3	100,00	135,00	45,00	2
21	3	7900,00	495,00	180,00	1
22	3	100,00	2520,00	675,00	2
23	3	100,00	3870,00	945,00	2
24	3	669,00	1170,00	360,00	1
25	3	59,00	1620,00	945,00	2
26	3	5,00	1215,00	90,00	2
27	3	15,00	2115,00	540,00	2
28	3	200,00	1665,00	225,00	2
29	3	415,00	2160,00	142,65	2
30	3	100,00	2340,00	630,00	1
31	3	243,00	45,00	144,90	2
32	3	4900,00	2610,00	630,00	1
33	3	300,00	2025,00	495,00	2



Tabelle 48: Ergebnisse der mittels Spektralphotometer gemessenen Enzymaktivität in Fraktion 3 (n = 50). Dargestellt sind die Aktivitäten (U/l) der Alkalischen Phosphatase (AP), Sauren Phosphatase (SP) und nicht-prostataspezifischen Sauren Phosphatase (NSP) der Rüden 34 - 50.

\* = kein Probenmaterial vorhanden

Gruppe 1 = Normospermie

Gruppe 2 = Pathospermie

Rüde	Fraktion	AP	SP	NSP	Gruppe
34	3	200,00	2880,00	720,00	1
35	3	500,00	1170,00	315,00	1
36	3	2600,00	1665,00	405,00	1
37	3	200,00	4185,00	990,00	2
38	3	1000,00	1440,00	360,00	1
39	3	400,00	900,00	225,00	1
40	3	700,00	2520,00	720,00	2
41	3	100,00	315,00	45,00	2
42	3	3100,00	1935,00	450,00	2
43	3	1400,00	1890,00	495,00	2
44	3	200,00	495,00	135,00	1
45	3	1000,00	2295,00	585,00	1
46	3	400,00	450,00	90,00	1
47	3	300,00	1260,00	315,00	1
48	3	1300,00	225,00	45,00	1
49	3	200,00	1980,00	495,00	2
50	3	200,00	1710,00	405,00	1

Tabelle 49: Ergebnisse der mittels Spektralphotometer gemessenen Enzymaktivität in Fraktion 1 (n = 39). Dargestellt sind die Aktivitäten (U/l) der Aspartat-Amino-Transferase (AST), Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT) sowie Laktatdehydrogenase (LDH) der Rüden 1 - 16.

\* = kein Probenmaterial vorhanden

Gruppe 1 = Normospermie

Gruppe 2 = Pathospermie

Rüde	Fraktion	AST	GGT	LDH	Gruppe
1	1	1,00	98,00	0	1
2	1	1,00	1,00	0	2
3	1	*	*	*	
4	1	8,00	106,00	1,04	2
5	1	*	*	*	2
6	1	*	*	*	
7	1	0,00	37,00	0,52	1
8	1	*	*	*	
9	1	2,00	7,00	1,04	2
10	1	1,00	900,00	0,52	2
11	1	1,00	900,00	2,6	2
12	1	0,00	3,00	0,52	2
13	1	1,00	100,00	0,52	2
14	1	1,00	200,00	2,08	2
15	1	*	*	*	2
16	1	0,00	244,00	0,52	2

Tabelle 50: Ergebnisse der mittels Spektralphotometer gemessenen Enzymaktivität in Fraktion 1 (n = 39). Dargestellt sind die Aktivitäten (U/l) der Aspartat-Amino-Transferase (AST), Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT) sowie Laktatdehydrogenase (LDH) der Rüden 17 - 33.

\* = kein Probenmaterial vorhanden

Gruppe 1 = Normospermie

Gruppe 2 = Pathospermie

Rüde	Fraktion	AST	GGT	LDH	Gruppe
17	1	*	*	*	
18	1	0,00	1,00	0	1
19	1	2,00	15,00	2,08	1
20	1	1,00	4,00	0,52	2
21	1	3,00	29,00	0,52	1
22	1	1,00	2,00	1,56	2
23	1	1,00	10,00	2,6	2
24	1	1,00	2,00	2,08	1
25	1	5,00	81,00	2,6	2
26	1	2,00	32,00	3,64	2
27	1	2,00	2800,00	3,12	2
28	1	*	*	*	
29	1	0,00	183,00	2,08	2
30	1	0,00	9,00	1,04	1
31	1	0,00	101,00	0	2
32	1	*	*	*	
33	1	0,00	2,00	0	2

Tabelle 51: Ergebnisse der mittels Spektralphotometer gemessenen Enzymaktivität in Fraktion 1 (n = 39). Dargestellt sind die Aktivitäten (U/l) der Aspartat-Amino-Transferase (AST), Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT) sowie Laktatdehydrogenase (LDH) der Rüden 34 - 50.

\* = kein Probenmaterial vorhanden

Gruppe 1 = Normospermie

Gruppe 2 = Pathospermie

Rüde	Fraktion	AST	GGT	LDH	Gruppe
34	2	1,00	700,00	2,6	1
35	2	3,00	2200,00	24,44	1
36	2	4,00	1800,00	22,88	1
37	2	2,00	2400,00	0,52	2
38	2	5,00	2500,00	0	1
39	2	1,00	100,00	44,2	1
40	2	3,00	3000,00	7,28	2
41	2	12,00	2,00	3,12	2
42	2	8,00	1800,00	46,8	2
43	2	*	800,00	*	2
44	2	9,00	500,00	4,16	1
45	2	16,00	1100,00	29,12	1
46	2	4,00	400,00	0	1
47	2	8,00	700,00	14,04	1
48	2	0,00	152,00	1,04	1
49	2	4,00	245,00	1,56	2
50	2	1,00	800,00	2,6	1

Tabelle 52: Ergebnisse der mittels Spektralphotometer gemessenen Enzymaktivität in Fraktion 2 (n = 50). Dargestellt sind die Aktivitäten (U/l) der Aspartat-Amino-Transferase (AST), Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT) sowie Laktatdehydrogenase (LDH) der Rüden 1 - 16.

\* = kein Probenmaterial vorhanden

Gruppe 1 = Normospermie

Gruppe 2 = Pathospermie

Rüde	Fraktion	AST	GGT	LDH	Gruppe
1	2	8,00	5000,00	26,52	1
2	2	5,00	1400,00	2,08	2
3	2	0,00	89,00	0,52	2
4	2	1,00	1,00	*	2
5	2	1,00	800,00	2,6	2
6	2	1,00	1400,00	2,08	1
7	2	1,00	200,00	1,56	1
8	2	61,00	2800,00	256,88	2
9	2	8,00	700,00	1,56	2
10	2	1,00	2500,00	1,56	2
11	2	1,00	1100,00	1,04	2
12	2	25,00	3600,00	173,68	2
13	2	1,00	264,00	1,04	2
14	2	1,00	700,00	2,08	2
15	2	2,00	3000,00	2,6	2
16	2	0,00	19,00	4,16	2

Tabelle 53: Ergebnisse der mittels Spektralphotometer gemessenen Enzymaktivität in Fraktion 2 (n = 50). Dargestellt sind die Aktivitäten (U/l) der Aspartat-Amino-Transferase (AST), Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT) sowie Laktatdehydrogenase (LDH) der Rüden 17 - 33.

\* = kein Probenmaterial vorhanden

Gruppe 1 = Normospermie

Gruppe 2 = Pathospermie

Rüde	Fraktion	AST	GGT	LDH	Gruppe
17	2	10,00	5900,00	8,84	2
18	2	*	2100,00	2,08	1
19	2	1,00	300,00	13,52	1
20	2	5,00	1300,00	15,08	2
21	2	2,00	2700,00	3,64	1
22	2	1,00	72,00	2,08	2
23	2	1,00	2,00	3,64	2
24	2	1,00	1500,00	3,64	1
25	2	2,00	3100,00	19,24	2
26	2	4,00	2500,00	14,04	2
27	2	1,00	21,00	3,12	2
28	2	2,00	10,00	2,6	2
29	2	0,00	2,00	0,52	2
30	2	2,00	400,00	2,6	1
31	2	4,00	2400,00	14,56	2
32	2	1,00	209,00	1,04	1
33	2	5,00	600,00	7,8	2

Tabelle 54: Ergebnisse der mittels Spektralphotometer gemessenen Enzymaktivität in Fraktion 2 (n = 50). Dargestellt sind die Aktivitäten (U/l) der Aspartat-Amino-Transferase (AST), Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT) sowie Laktatdehydrogenase (LDH) der Rüden 34 - 50.

\* = kein Probenmaterial vorhanden

Gruppe 1 = Normospermie

Gruppe 2 = Pathospermie

Rüde	Fraktion	AST	GGT	LDH	Gruppe
34	2	1,00	700,00	2,6	1
35	2	3,00	2200,00	24,44	1
36	2	4,00	1800,00	22,88	1
37	2	2,00	2400,00	0,52	2
38	2	5,00	2500,00	0	1
39	2	1,00	100,00	44,2	1
40	2	3,00	3000,00	7,28	2
41	2	12,00	2,00	3,12	2
42	2	8,00	1800,00	46,8	2
43	2	*	800,00	*	2
44	2	9,00	500,00	4,16	1
45	2	16,00	1100,00	29,12	1
46	2	4,00	400,00	0	1
47	2	8,00	700,00	14,04	1
48	2	0,00	152,00	1,04	1
49	2	4,00	245,00	1,56	2
50	2	1,00	800,00	2,6	1

Tabelle 55: Ergebnisse der mittels Spektralphotometer gemessenen Enzymaktivität in Fraktion 3 (n = 50). Dargestellt sind die Aktivitäten (U/l) der Aspartat-Amino-Transferase (AST), Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT) sowie Laktatdehydrogenase (LDH) der Rüden 1 - 16.

\* = kein Probenmaterial vorhanden

Gruppe 1 = Normospermie

Gruppe 2 = Pathospermie

Rüde	Fraktion	AST	GGT	LDH	Gruppe
1	3	1,00	2,00	0,52	1
2	3	1,00	1,00	0	2
3	3	1,00	41,00	1,56	2
4	3	1,00	9,00	0,52	2
5	3	1,00	4,00	2,08	2
6	3	1,00	21,00	2,6	1
7	3	0,07	1,00	1,56	1
8	3	1,00	14,00	1,04	2
9	3	1,00	16,00	2,6	2
10	3	1,00	21,00	1,56	2
11	3	1,00	8,00	0,52	2
12	3	0,00	35,00	1,56	2
13	3	0,00	1,00	1,04	2
14	3	1,00	3,00	1,56	2
15	3	1,00	12,00	1,04	2
16	3	1,00	7,00	1,56	2



Tabelle 56: Ergebnisse der mittels Spektralphotometer gemessenen Enzymaktivität in Fraktion 3 (n = 50). Dargestellt sind die Aktivitäten (U/l) der Aspartat-Amino-Transferase (AST), Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT) sowie Laktatdehydrogenase (LDH) der Rüden 17 - 33.

\* = kein Probenmaterial vorhanden

Gruppe 1 = Normospermie

Gruppe 2 = Pathospermie

Rüde	Fraktion	AST	GGT	LDH	Gruppe
17	3	1,00	100,00	6,76	2
18	3	1,00	32,00	1,56	1
19	3	1,00	7,00	2,08	1
20	3	1,00	2,00	0,52	2
21	3	1,00	900,00	1,04	1
22	3	2,00	1900,00	2,6	2
23	3	1,00	2200,00	3,64	2
24	3	1,00	126,00	2,6	1
25	3	0,00	4,00	2,08	2
26	3	0,00	1,00	0,52	2
27	3	0,00	125,00	1,04	2
28	3	*	100,00	0,52	2
29	3	0,00	200,00	1,04	2
30	3	0,00	1,00	1,56	1
31	3	1,00	5,00	2,08	2
32	3	1,00	75,00	1,04	1
33	3	0,00	19,00	0,52	2

Tabelle 57: Ergebnisse der mittels Spektralphotometer gemessenen Enzymaktivität in Fraktion 3 (n = 50). Dargestellt sind die Aktivitäten (U/l) der Aspartat-Amino-Transferase (AST), Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT) sowie Laktatdehydrogenase (LDH) der Rüden 34 - 50.

\* = kein Probenmaterial vorhanden

Gruppe 1 = Normospermie

Gruppe 2 = Pathospermie

Rüde	Fraktion	AST	GGT	LDH	Gruppe
34	3	0,00	7,00	1,04	1
35	3	1,00	23,00	0,52	1
36	3	1,00	44,00	2,08	1
37	3	0,00	4,00	0	2
38	3	1,00	5000,00	0,52	1
39	3	1,00	3,00	1,04	1
40	3	2,00	64,00	2,6	2
41	3	0,00	110,00	1,56	2
42	3	3,00	200,00	13,52	2
43	3	1,00	12,00	1,56	2
44	3	1,00	2,00	0,52	1
45	3	1,00	8,00	2,08	1
46	3	1,00	100,00	1,04	1
47	3	1,00	3,00	1,04	1
48	3	0,00	6,00	1,04	1
49	3	1,00	8,00	0,52	2
50	3	1,00	2,00	1,56	1

## 8.1.2 Ergebnisse der Konzentrationen der Mengenelemente

Tabelle 58: Ergebnisse der mittels Flammenphotometrie gemessenen Konzentrationen der Mengenelemente in Fraktion 1 (n = 39). Dargestellt sind die Konzentrationen (mmol/l) von Natrium (Na), Kalium (K) sowie Calcium (Ca) der Rüden 1 - 25.

\* = kein Probenmaterial vorhanden

Gruppe 1 = Normospermie

Gruppe 2 = Pathospermie

Rüde	Fraktion	Na	K	Ca	Gruppe
1	1	144,50	7,46	0,17	1
2	1	151,70	4,32	0,10	2
3	1	*	*	*	
4	1	147,50	6,01	0,12	2
5	1	*	*	*	2
6	1	*	*	*	
7	1	155,30	4,99	0,07	1
8	1	*	*	*	
9	1	149,20	8,37	0,13	2
10	1	142,10	5,93	0,08	2
11	1	133,10	11,48	0,16	2
12	1	147,60	5,80	0,14	2
13	1	147,40	11,25	0,17	2
14	1	137,70	11,44	0,15	2
15	1	148,60	5,53	0,09	2
16	1	143,30	4,77	0,07	2
17	1	*	*	*	
18	1	150,80	6,34	0,23	1
19	1	165,60	6,08	0,16	1
20	1	170,60	12,47	0,74	2
21	1	171,50	5,73	0,52	1
22	1	146,40	6,12	0,85	2
23	1	145,00	5,17	0,16	2
24	1	142,60	5,95	0,74	1
25	1	149,90	6,37	0,28	2

Tabelle 59: Ergebnisse der mittels Flammenphotometrie gemessenen Konzentrationen der Mengenelemente in Fraktion 1 (n = 39). Dargestellt sind die Konzentrationen (mmol/l) von Natrium (Na), Kalium (K) sowie Calcium (Ca) der Rüden 26 - 50.

\* = kein Probenmaterial vorhanden

Gruppe 1 = Normospermie

Gruppe 2 = Pathospermie

Rüde	Fraktion	Na	K	Ca	Gruppe
26	1	152,40	6,67	0,36	2
27	1	120,70	16,54	0,18	2
28	1	*	*	*	
29	1	150,50	6,22	0,28	2
30	1	151,60	6,29	0,21	1
31	1	148,50	5,19	0,10	2
32	1	*	*	*	
33	1	149,30	5,32	0,13	2
34	1	148,00	6,39	0,41	1
35	1	148,40	11,89	0,93	1
36	1	139,60	10,99	0,30	1
37	1	153,70	5,23	0,04	2
38	1	*	*	*	
39	1	154,00	7,06	0,08	1
40	1	125,70	5,18	0,15	2
41	1	158,10	10,53	0,22	2
42	1	146,70	8,59	0,15	2
43	1	150,50	5,43	0,13	2
44	1	148,10	7,28	0,25	1
45	1	147,50	5,34	0,25	1
46	1	*	*	*	
47	1	151,30	8,13	0,14	1
48	1	*	*	*	
49	1	*	*	*	
50	1	*	*	*	

Tabelle 60: Ergebnisse der mittels Flammenphotometrie gemessenen Konzentrationen der Mengenelemente in Fraktion 2 (n = 50). Dargestellt sind die Konzentrationen (mmol/l) von Natrium (Na), Kalium (K) sowie Calcium (Ca) der Rüden 1 - 25.

\* = kein Probenmaterial vorhanden

Gruppe 1 = Normospermie

Gruppe 2 = Pathospermie

Rüde	Fraktion	Na	K	Ca	Gruppe
1	2	113,80	16,50	0,14	1
2	2	125,70	15,51	0,14	2
3	2	146,20	8,79	0,13	2
4	2	121,60	16,34	0,22	2
5	2	141,30	12,16	1,49	2
6	2	128,20	8,74	0,14	1
7	2	150,30	7,46	0,07	1
8	2	106,40	13,64	0,25	2
9	2	133,00	10,29	0,40	2
10	2	132,20	8,64	0,12	2
11	2	140,40	8,50	0,16	2
12	2	115,20	13,98	0,29	2
13	2	146,60	11,89	0,17	2
14	2	141,90	8,59	0,19	2
15	2	126,40	10,71	0,12	2
16	2	126,80	11,37	0,16	2
17	2	118,20	10,83	0,46	2
18	2	128,70	17,53	0,34	1
19	2	187,80	16,67	0,24	1
20	2	133,60	15,86	1,17	2
21	2	131,60	7,54	4,43	1
22	2	143,10	11,13	1,62	2
23	2	143,10	12,48	0,20	2
24	2	137,60	12,18	1,93	1
25	2	123,70	16,29	0,20	2

Tabelle 61: Ergebnisse der mittels Flammenphotometrie gemessenen Konzentrationen der Mengenelemente in Fraktion 2 (n = 50). Dargestellt sind die Konzentrationen (mmol/l) von Natrium (Na), Kalium (K) sowie Calcium (Ca) der Rüden 26 - 50.

\* = kein Probenmaterial vorhanden

Gruppe 1 = Normospermie

Gruppe 2 = Pathospermie

Rüde	Fraktion	Na	K	Ca	Gruppe
26	2	137,70	14,55	0,77	2
27	2	148,50	7,63	0,13	2
28	2	131,30	10,41	0,19	2
29	2	156,10	6,45	0,20	2
30	2	146,10	14,82	0,22	1
31	2	126,70	9,99	0,17	2
32	2	192,60	7,20	0,12	1
33	2	125,70	15,74	0,12	2
34	2	133,80	13,24	2,15	1
35	2	129,10	15,56	1,83	1
36	2	117,40	14,83	0,34	1
37	2	127,80	11,60	0,11	2
38	2	148,50	8,02	0,14	1
39	2	138,00	13,98	0,33	1
40	2	142,30	13,77	0,19	2
41	2	140,70	10,48	0,42	2
42	2	134,00	6,35	0,16	2
43	2	123,60	12,87	0,20	2
44	2	136,00	16,64	0,21	1
45	2	119,80	16,12	0,23	1
46	2	143,10	13,33	0,26	1
47	2	131,30	7,24	0,19	1
48	2	139,00	7,12	0,24	1
49	2	141,00	10,29	0,14	2
50	2	146,80	12,65	0,22	1

Tabelle 62: Ergebnisse der mittels Flammenphotometrie gemessenen Konzentrationen der Mengenelemente in Fraktion 3 (n = 50). Dargestellt sind die Konzentrationen (mmol/l) von Natrium (Na), Kalium (K) sowie Calcium (Ca) der Rüden 1 - 25.

\* = kein Probenmaterial vorhanden

Gruppe 1 = Normospermie

Gruppe 2 = Pathospermie

Rüde	Fraktion	Na	K	Ca	Gruppe
1	3	140,30	11,89	0,12	1
2	3	153,90	10,85	0,15	2
3	3	145,40	12,77	0,14	2
4	3	144,80	15,64	0,17	2
5	3	154,20	8,70	0,24	2
6	3	135,60	14,12	0,14	1
7	3	146,20	14,16	7,46	1
8	3	144,40	9,74	0,15	2
9	3	145,30	10,30	0,23	2
10	3	143,80	9,24	0,11	2
11	3	143,30	9,69	0,25	2
12	3	153,60	12,45	0,27	2
13	3	155,80	7,89	0,14	2
14	3	144,50	11,05	0,15	2
15	3	140,20	11,62	0,08	2
16	3	143,80	11,24	0,17	2
17	3	150,50	8,93	0,23	2
18	3	176,80	15,30	0,24	1
19	3	203,90	15,88	0,26	1
20	3	182,90	11,60	0,56	2
21	3	146,30	11,86	0,34	1
22	3	129,20	11,78	1,91	2
23	3	129,30	9,44	0,14	2
24	3	177,10	14,02	1,76	1
25	3	149,10	9,78	0,18	2

Tabelle 63: Ergebnisse der mittels Flammenphotometrie gemessenen Konzentrationen der Mengenelemente in Fraktion 3 (n = 50). Dargestellt sind die Konzentrationen (mmol/l) von Natrium (Na), Kalium (K) sowie Calcium (Ca) der Rüden 26 - 50.

\* = kein Probenmaterial vorhanden

Gruppe 1 = Normospermie

Gruppe 2 = Pathospermie

Rüde	Fraktion	Na	K	Ca	Gruppe
26	3	155,80	7,09	0,29	2
27	3	147,90	14,68	0,17	2
28	3	144,30	12,91	0,15	2
29	3	149,50	9,81	0,23	2
30	3	155,60	11,73	0,20	1
31	3	148,10	8,20	0,15	2
32	3	153,40	11,53	0,13	1
33	3	145,10	14,58	0,16	2
34	3	142,90	11,68	1,79	1
35	3	165,60	12,87	0,66	1
36	3	140,90	12,77	0,25	1
37	3	142,80	12,65	0,13	2
38	3	182,70	12,37	0,08	1
39	3	151,20	11,04	0,32	1
40	3	131,20	15,22	0,15	2
41	3	150,80	8,08	0,39	2
42	3	139,70	8,58	0,11	2
43	3	171,20	19,22	0,19	2
44	3	157,50	13,10	0,19	1
45	3	136,40	14,64	0,20	1
46	3	144,10	14,33	0,16	1
47	3	160,10	15,68	0,19	1
48	3	146,20	8,08	0,12	1
49	3	150,40	8,27	0,15	2
50	3	155,40	15,74	0,18	1



Tabelle 64: Ergebnisse der mittels Flammenphotometrie gemessenen Konzentrationen der Mengenelemente in Fraktion 1 (n = 39). Dargestellt sind die Konzentrationen (mmol/l) von Magnesium (Mg) sowie anorganisches Phosphat (P) der Rüden 1 - 25.

\* = kein Probenmaterial vorhanden

Gruppe 1 = Normospermie

Gruppe 2 = Pathospermie

Rüde	Fraktion	Mg	P	Gruppe
1	1	1,03	0,34	1
2	1	0,55	0,00	2
3	1	*	*	
4	1	1,46	0,43	2
5	1	1,16	0,57	2
6	1	*	*	
7	1	0,47	0,13	1
8	1	*	*	
9	1	0,41	1,57	2
10	1	1,86	0,39	2
11	1	1,54	0,53	2
12	1	1,02	0,42	2
13	1	1,13	0,13	2
14	1	3,10	0,24	2
15	1	1,30	0,03	2
16	1	1,50	0,22	2
17	1	*	*	
18	1	1,43	0,98	1
19	1	2,71	0,28	1
20	1	1,81	0,34	2
21	1	1,12	0,25	1
22	1	1,67	0,39	2
23	1	0,81	0,13	2
24	1	1,27	0,19	1
25	1	1,22	0,38	2

Tabelle 65: Ergebnisse der mittels Flammenphotometrie gemessenen Konzentrationen der Mengenelemente in Fraktion 1 (n = 39). Dargestellt sind die Konzentrationen (mmol/l) von Magnesium (Mg) sowie anorganisches Phosphat (P) der Rüden 26 - 50.

\* = kein Probenmaterial vorhanden

Gruppe 1 = Normospermie

Gruppe 2 = Pathospermie

Rüde	Fraktion	Mg	P	Gruppe
26	1	1,25	0,76	2
27	1	3,20	0,45	2
28	1	*	*	
29	1	1,27	0,38	2
30	1	1,04	0,28	1
31	1	0,66	0,24	2
32	1	*	*	
33	1	1,06	0,35	2
34	1	1,04	0,58	1
35	1	1,13	1,62	1
36	1	1,49	2,33	1
37	1	0,99	1,84	2
38	1	*	*	
39	1	0,64	0,42	1
40	1	1,73	0,81	2
41	1	1,83	0,17	2
42	1	1,88	0,08	2
43	1	0,79	0,03	2
44	1	0,92	0,56	1
45	1	0,87	0,73	1
46	1	*	*	
47	1	0,63	1,00	1
48	1	*	*	
49	1	*	*	
50	1	*	*	

Tabelle 66: Ergebnisse der mittels Flammenphotometrie gemessenen Konzentrationen der Mengenelemente in Fraktion 2 (n = 50). Dargestellt sind die Konzentrationen (mmol/l) von Magnesium (Mg) sowie anorganisches Phosphat (P) der Rüden 1 - 25.

\* = kein Probenmaterial vorhanden

Gruppe 1 = Normospermie

Gruppe 2 = Pathospermie

Rüde	Fraktion	Mg	P	Gruppe
1	2	1,42	0,70	1
2	2	3,51	6,34	2
3	2	1,02	2,99	2
4	2	2,73	1,14	2
5	2	1,74	0,51	2
6	2	1,63	0,64	1
7	2	0,85	0,18	1
8	2	3,29	1,38	2
9	2	1,76	1,20	2
10	2	2,27	0,49	2
11	2	0,67	0,54	2
12	2	1,63	1,89	2
13	2	1,57	0,37	2
14	2	1,55	0,45	2
15	2	1,63	0,58	2
16	2	2,47	0,52	2
17	2	1,81	4,64	2
18	2	1,35	0,78	1
19	2	3,61	0,58	1
20	2	2,89	1,16	2
21	2	1,34	0,93	1
22	2	2,25	0,29	2
23	2	1,69	0,21	2
24	2	2,41	0,62	1
25	2	3,63	0,47	2

Tabelle 67: Ergebnisse der mittels Flammenphotometrie gemessenen Konzentrationen der Mengenelemente in Fraktion 2 (n = 50). Dargestellt sind die Konzentrationen (mmol/l) von Magnesium (Mg) sowie anorganisches Phosphat (P) der Rüden 26 - 50.

\* = kein Probenmaterial vorhanden

Gruppe 1 = Normospermie

Gruppe 2 = Pathospermie

Rüde	Fraktion	Mg	P	Gruppe
26	2	1,90	1,17	2
27	2	1,71	0,54	2
28	2	2,43	1,70	2
29	2	0,86	0,22	2
30	2	2,29	0,29	1
31	2	1,01	1,13	2
32	2	1,90	0,24	1
33	2	3,55	0,28	2
34	2	2,64	1,10	1
35	2	1,69	1,09	1
36	2	2,67	1,16	1
37	2	1,58	0,62	2
38	2	1,33	0,69	1
39	2	2,58	0,24	1
40	2	2,94	0,83	2
41	2	1,87	0,77	2
42	2	1,68	0,52	2
43	2	1,66	3,60	2
44	2	1,87	0,90	1
45	2	3,04	0,28	1
46	2	1,59	1,49	1
47	2	2,75	1,09	1
48	2	1,34	0,65	1
49	2	2,06	0,99	2
50	2	2,10	0,81	1

Tabelle 68: Ergebnisse der mittels Flammenphotometrie gemessenen Konzentrationen der Mengenelemente in Fraktion 3 (n = 50). Dargestellt sind die Konzentrationen (mmol/l) von Magnesium (Mg) sowie anorganisches Phosphat (P) der Rüden 1 - 25.

\* = kein Probenmaterial vorhanden

Gruppe 1 = Normospermie

Gruppe 2 = Pathospermie

Rüde	Fraktion	Mg	P	Gruppe
1	3	1,98	0,20	1
2	3	1,23	0,02	2
3	3	2,08	0,22	2
4	3	2,24	0,18	2
5	3	0,97	0,10	2
6	3	3,20	0,12	1
7	3	200,00	0,85	1
8	3	3,19	0,26	2
9	3	2,01	2,74	2
10	3	2,71	0,23	2
11	3	1,42	0,39	2
12	3	2,04	0,24	2
13	3	0,44	0,07	2
14	3	3,03	0,26	2
15	3	2,31	0,17	2
16	3	2,02	0,15	2
17	3	1,50	0,14	2
18	3	1,73	0,74	1
19	3	3,68	0,89	1
20	3	1,38	0,08	2
21	3	2,47	0,48	1
22	3	2,80	0,90	2
23	3	1,31	1,32	2
24	3	2,11	0,30	1
25	3	1,97	0,27	2

Tabelle 69: Ergebnisse der mittels Flammenphotometrie gemessenen Konzentrationen der Mengenelemente in Fraktion 3 (n = 50). Dargestellt sind die Konzentrationen (mmol/l) von Magnesium (Mg) sowie anorganisches Phosphat (P) der Rüden 26 - 50.

\* = kein Probenmaterial vorhanden

Gruppe 1 = Normospermie

Gruppe 2 = Pathospermie

Rüde	Fraktion	Mg	P	Gruppe
26	3	0,52	0,10	2
27	3	3,29	0,31	2
28	3	2,57	0,27	2
29	3	1,62	0,25	2
30	3	2,02	0,06	1
31	3	1,70	0,32	2
32	3	2,82	0,28	1
33	3	3,02	0,31	2
34	3	2,28	0,22	1
35	3	0,81	0,20	1
36	3	2,99	1,26	1
37	3	3,34	0,39	2
38	3	3,55	0,32	1
39	3	1,28	0,09	1
40	3	3,53	0,12	2
41	3	1,10	0,76	2
42	3	2,61	0,15	2
43	3	3,12	0,22	2
44	3	1,10	0,02	1
45	3	3,43	0,42	1
46	3	1,81	0,17	1
47	3	2,79	0,28	1
48	3	0,90	0,16	1
49	3	2,65	0,35	2
50	3	2,67	0,71	1

## 8.1.3 Ergebnisse der Konzentrationen der Spurenelemente

Tabelle 70: Ergebnisse der mittels Spektralphotometer gemessenen Konzentrationen der Spurenelemente in Fraktion 1 (n = 39). Dargestellt sind die Konzentrationen ( $\mu\text{mol/l}$ ) von Zink (Zn), Kupfer (Cu) sowie Eisen (Fe) der Rüden 1 - 28.

\* = kein Probenmaterial vorhanden

Gruppe 1 = Normospermie

Gruppe 2 = Pathospermie

Rüde	Fraktion	Zn	Cu	Fe	Gruppe
1	1	148,30	39,06	0,00	1
2	1	72,60	20,19	0,00	2
3	1	*	*	*	
4	1	97,30	12,4	0,00	2
5	1	154,00	50,90	1,00	2
6	1	*	*	*	
7	1	20,10	0,60	0,10	1
8	1	*	*	*	
9	1	25,80	17,40	0,00	2
10	1	150,70	14,20	0,00	2
11	1	153,50	43,30	0,00	2
12	1	62,40	27,90	0,00	2
13	1	150,80	48,30	0,00	2
14	1	152,30	44,00	0,00	2
15	1	49,50	10,20	0,00	2
16	1	53,80	6,60	0,00	2
17	1	*	*	*	
18	1	139,20	45,10	0,00	1
19	1	97,10	10,40	0,00	1
20	1	150,40	46,60	0,00	2
21	1	142,60	16,90	13,70	1
22	1	150,20	46,80	0,00	2
23	1	139,10	43,40	0,00	2
24	1	148,30	48,90	0,00	1
25	1	152,10	47,20	0,00	2

Tabelle 71: Ergebnisse der mittels Spektralphotometer gemessenen Konzentrationen der Spurenelemente in Fraktion 1 (n = 39). Dargestellt sind die Konzentrationen ( $\mu\text{mol/l}$ ) von Zink (Zn), Kupfer (Cu) sowie Eisen (Fe) der Rüden 26 - 50.

\* = kein Probenmaterial vorhanden

Gruppe 1 = Normospermie

Gruppe 2 = Pathospermie

Rüde	Fraktion	Zn	Cu	Fe	Gruppe
26	1	146,20	16,80	0,00	2
27	1	153,30	41,60	0,00	2
28	1	*	*	*	
29	1	149,00	44,30	0,00	2
30	1	174,20	47,70	0,00	1
31	1	41,50	20,70	0,00	2
32	1	*	*	*	
33	1	151,20	22,90	0,00	2
34	1	137,00	45,70	0,00	1
35	1	147,00	34,20	0,00	1
36	1	98,00	44,70	0,00	1
37	1	56,80	3,90	0,00	2
38	1	*	*	*	
39	1	21,10	2,93	0,00	1
40	1	46,00	8,23	0,00	2
41	1	152,80	45,87	0,50	2
42	1	178,90	39,95	0,00	2
43	1	55,89	3,66	0,00	2
44	1	12,43	5,76	0,00	1
45	1	171,50	17,64	0,00	1
46	1	*	*	*	
47	1	175,50	27,03	0,00	1
48	1	*	*	*	
49	1	*	*	*	
50	1	*	*	*	



Tabelle 72: Ergebnisse der mittels Spektralphotometer gemessenen Konzentrationen der Spurenelemente in Fraktion 2 (n = 50). Dargestellt sind die Konzentrationen ( $\mu\text{mol/l}$ ) von Zink (Zn), Kupfer (Cu) sowie Eisen (Fe) der Rüden 1 - 25.

\* = kein Probenmaterial vorhanden

Gruppe 1 = Normospermie

Gruppe 2 = Pathospermie

Rüde	Fraktion	Zn	Cu	Fe	Gruppe
1	2	157,00	41,29	0,00	1
2	2	158,80	41,35	0,00	2
3	2	150,60	54,10	1, 3	2
4	2	158,60	55,70	0,00	2
5	2	156,60	61,80	1, 3	2
6	2	148,80	44,60	1,60	1
7	2	148,10	19,60	0,00	1
8	2	154,40	45,00	0,00	2
9	2	164,50	63,30	1,50	2
10	2	152,10	47,40	0,00	2
11	2	57,30	16,40	0,00	2
12	2	151,90	44,60	0,00	2
13	2	151,80	47,70	0,00	2
14	2	150,10	49,70	0,00	2
15	2	150,40	51,40	0,00	2
16	2	156,40	47,20	0,00	2
17	2	152,00	50,30	0,50	2
18	2	156,70	51,70	0,00	1
19	2	152,60	39,30	0,00	1
20	2	152,10	47,60	0,00	2
21	2	148,10	28,90	0,00	1
22	2	153,00	46,50	0,00	2
23	2	153,20	47,10	0,00	2
24	2	151,30	45,40	0,00	1
25	2	153,80	39,70	0,00	2

Tabelle 73: Ergebnisse der mittels Spektralphotometer gemessenen Konzentrationen der Spurenelemente in Fraktion 2 (n = 50). Dargestellt sind die Konzentrationen ( $\mu\text{mol/l}$ ) von Zink (Zn), Kupfer (Cu) sowie Eisen (Fe) der Rüden 26 - 50.

\* = kein Probenmaterial vorhanden

Gruppe 1 = Normospermie

Gruppe 2 = Pathospermie

Rüde	Fraktion	Zn	Cu	Fe	Gruppe
26	2	155,00	45,10	0,00	2
27	2	153,10	46,90	0,00	2
28	2	152,90	50,90	0,00	2
29	2	148,80	45,50	0,00	2
30	2	152,80	39,60	0,00	1
31	2	149,80	46,50	0,00	2
32	2	81,50	12,00	0,00	1
33	2	156,00	40,60	0,00	2
34	2	154,70	41,60	0,00	1
35	2	153,00	47,10	0,00	1
36	2	156,10	43,60	0,00	1
37	2	152,00	45,30	0,00	2
38	2	97,70	11,50	0,00	1
39	2	151,00	40,17	0,00	1
40	2	152,80	46,96	0,00	2
41	2	154,00	49,57	15,40	2
42	2	130,50	6,60	0,00	2
43	2	179,30	41,83	0,00	2
44	2	182,80	41,51	0,50	1
45	2	174,10	38,13	0,00	1
46	2	172,30	36,84	0,00	1
47	2	174,50	37,34	0,00	1
48	2	143,30	13,39	0,00	1
49	2	148,30	40,44	0,00	2
50	2	149,30	40,13	0,00	1

Tabelle 74: Ergebnisse der mittels Spektralphotometer gemessenen Konzentrationen der Spurenelemente in Fraktion 3 (n = 50). Dargestellt sind die Konzentrationen ( $\mu\text{mol/l}$ ) von Zink (Zn), Kupfer (Cu) sowie Eisen (Fe) der Rüden 1 - 25.

\* = kein Probenmaterial vorhanden

Gruppe 1 = Normospermie

Gruppe 2 = Pathospermie

Rüde	Fraktion	Zn	Cu	Fe	Gruppe
1	3	160,00	6,73	0,00	1
2	3	157,40	44,41	0,00	2
3	3	158,20	53,20	0,20	2
4	3	156,40	56,60	0,00	2
5	3	155,50	45,50	0,00	2
6	3	152,30	43,30	1,50	1
7	3	153,30	45,30	0,00	1
8	3	154,10	42,70	0,00	2
9	3	151,80	48,30	0,00	2
10	3	154,30	48,80	0,00	2
11	3	152,30	47,50	0,00	2
12	3	153,60	43,10	0,00	2
13	3	148,90	26,60	0,00	2
14	3	151,50	45,50	0,00	2
15	3	151,80	49,30	0,00	2
16	3	153,00	46,30	0,00	2
17	3	151,80	48,40	0,00	2
18	3	152,20	46,20	0,00	1
19	3	153,10	40,20	0,00	1
20	3	150,70	34,50	0,00	2
21	3	152,20	48,20	4,20	1
22	3	152,60	46,60	0,00	2
23	3	150,40	49,30	0,00	2
24	3	151,90	47,10	0,00	1
25	3	153,60	44,80	0,00	2

Tabelle 75: Ergebnisse der mittels Spektralphotometer gemessenen Konzentrationen der Spurenelemente in Fraktion 3 (n = 50). Dargestellt sind die Konzentrationen ( $\mu\text{mol/l}$ ) von Zink (Zn), Kupfer (Cu) sowie Eisen (Fe) der Rüden 26 - 50.

\* = kein Probenmaterial vorhanden

Gruppe 1 = Normospermie

Gruppe 2 = Pathospermie

Rüde	Fraktion	Zn	Cu	Fe	Gruppe
26	3	152,20	23,40	0,00	2
27	3	152,50	42,20	0,00	2
28	3	150,70	42,90	0,00	2
29	3	149,00	44,60	0,00	2
30	3	150,80	43,70	0,00	1
31	3	152,50	46,30	0,00	2
32	3	152,00	41,70	0,00	1
33	3	156,30	43,30	0,00	2
34	3	154,80	45,00	0,00	1
35	3	152,20	37,20	0,00	1
36	3	154,60	42,10	0,00	1
37	3	155,40	42,60	0,00	2
38	3	145,70	45,40	0,00	1
39	3	150,20	35,12	0,00	1
40	3	152,50	42,08	0,00	2
41	3	149,30	42,30	2,50	2
42	3	179,00	39,17	0,00	2
43	3	180,90	37,52	0,00	2
44	3	178,30	23,68	0,00	1
45	3	173,60	37,73	0,00	1
46	3	173,90	37,20	0,00	1
47	3	175,60	39,22	0,00	1
48	3	147,00	34,45	0,00	1
49	3	148,80	37,74	0,00	2
50	3	148,70	38,39	0,00	1

**9 Literaturverzeichnis**

ABDOU, M. S.; EL-GUINDI, M. M.; MOSTAFA, M.A.; EL-WISHY, A. B.;  
FARAHAT, A. A. (1974)  
Comparative study of the phosphatase activity in the semen of bovines (bos bubalis  
and bos Taurus) in Egypt  
Zentralbl. Veterinarmed. (A) 21, 759-767

ABOU-SHAKRA, F. R.; WARD, N. I.; EVERARD, D. M.; (1989)  
The role of trace elements in male infertility  
Fertil. Steril. 52, 307-310

AGRAWAL, Y. P.; VANHA-PERTTULA, T. (1988)  
Gamma-glutamyl transpeptidase, glutathione and L-glutamic acid in the rat  
epididymis during postnatal development  
Biol. Reprod. 38, 996–1000

AITKEN, R. J. (1999)  
The Amoroso lecture  
The human spermatozoon - a cell in crisis?  
J. Reprod. Fertil. 115, 1-7

ALEXANDER, F. C.; ZEMJANIS, R.; GRAHAM, E. F.; SCHMEHL, M. L. (1971)  
Semen characteristics and chemistry from bulls before and after seminal  
vesiculectomy and after vesiculectomy  
J. Dairy Sci. 54, 1530-1535

ALLEN, W. E. (1994)  
Spermabewertung  
In: ALLEN, W. E. (Hrsg.): Fruchtbarkeit und Geburtshilfe beim Hund  
Übersetzt von ZWICK, Y. C.; ZWICK, V. – Stuttgart: Enke, 29-38

ALTHOUSE, G. C.; KO, J. C. H.; HOPKINS, S. M.; EVANS, L. E. (1991)

Effect of latex and vinyl examination gloves on canine spermatozoa motility

J. Am. Vet. Med. Assoc. 199, 227-229

AURICH, J. E.; KÜHNE, A.; HOPPE, H.; AURICH, C. (1996)

Seminal plasma affects membrane integrity and motility of equine spermatozoa after cryopreservation

Theriogenology 46, 791-797

AYDEMIR, B.; KIZILER, A.R.; ONARAN, I.; ALICI, B.; OZKARA, H.; AKYOLCU, M.C. (2006)

Impact of Cu and Fe Concentrations on Oxidative Damage in Male Infertility

Biol. Trace Element Res. 112, 193-203

BARTLETT, D.J. (1961)

Studies on dog Semen

2. Biochemical Characteristics

J. Reprod. Fertil. 3, 190-205

BEHNE, D.; GESSNER, H.; WOLTERS, G.; BROTHERTON, J. (1988):

Selenium, rubidium, and zinc in human semen and semen fractions

Int. J. Androl. 11, 415-423

BELL, D. J., LAKE, P. E. (1962)

A comparison of phosphomonoesterase activities in the seminal plasma of the domestic cock, turkey, boar, buck, rabbit and man

J. Fertil. 3, 262-268

BELL, F.W.; KLAUSNER, J.S.; HAYDEN, D.W.; LUND, E.M., LIEBENSTEIN, B.B., FEENEY, D.A. (1995)

Evaluation of serum and seminal markers in the diagnosis of canine prostatic disorders

J. Vet. Intern. Med. 9, 149-153

BERNSTEIN, A. (1933)

Tablicy mineraljnogo sostava sperma. Etjudy po fiziologii spermatozoidov

In: Anim. Breed. Abstr.

Trans, vet. Path., Orenburg vet. Inst., No. I, 63, 3, 479

BERTRAND, G.; VLADESCO, R. (1921)

Intervention probable du zinc dans les phénomènes de fecondation chez les animaux vertébrés

C.R Acad. Sci., Paris, 173, 176

BIRES, J.; BARTKO, P.; HUSKA, M. (1997)

Distribution of risk elements in the organism of sheep after industrial intoxication with zinc

Spectrosc. Lett. 30, 1263-1277

BRANAM, J.E.; KEEN, C.L.; LING, G.V.; FRANTI, C.E. (1984)

Selected physical and chemical characteristics of prostatic fluid collected by ejaculation from healthy dogs and from dogs with bacterial prostatitis

Am. J. Vet. Res. 45, 825-829

BROOKS, D. E. (1990)

Biochemistry of the male accessory glands

In: LAMMING, G. E. (Hrsg.): Marshall's physiology of reproduction (4<sup>th</sup> Edn.)

Edinburgh, Churchill Livingstone, 569-690

CALDAMONE, A.A.; FREYTAG, M.K.; COCKETT, A.T. (1979)

Seminal zinc and male infertility

Urology. 13, 280-281

CASSANI, P.; BECONI, M. T.; O'FLAHERTY (2005)

Relationship between total superoxide dismutase activity with lipid peroxidation, dynamics and morphological parameters in canine semen

Anim. Reprod. Sci. 86, 163-173

- ÇEVİK, M.; TUNCER, P. B.; TAŞDEMİR, ÖZGÜRTAŞ, T. (2007)  
Comparison of Spermatological Characteristics and Biochemical Seminal Plasma Parameters of Normozoospermic and Oligoasthenozoospermic Bulls of two Breeds  
Turk. J. Vet. Anim. Sci. 31, 381-387
- CHAUHAN, R.A.S; SRIVASTAVA, R.K. (1973)  
Enzyme composition of buffalo seminal plasma  
J. Reprod. Fertil. 34, 165–166
- CHIA, ONG. C.N.; CHUA, L. H.; H. O, L.M.; TAY, S. K. (2000)  
Comparison of zinc concentrations in blood and seminal plasma and the various sperm parameters between fertile and infertile men  
J. Androl. 21, 53-57
- CHRISTENSEN, B.W.; ASA, C.S.; WANG, C.; VANSANDT, L.; BAUMAN, K.; CALLAHAN, M.; JENS, J.K., ELLINWOOD, N.M. (2011)  
Effect of semen collection method on sperm motility of gray wolves (*Canis lupus*) and domestic dogs (*C.l. familiaris*)  
Theriogenology 76, 975-980
- CIGANKOVA, V.; MESAROS, P.; BIRES, J.; TOMAJKOVA, E.; CERNOTA, S. (1994)  
Morphological structure of bull testes at zinc deficiency and effect of zinc application on spermatogenesis recovery  
Slov. Vet. J., 19, 134-138
- CIGANKOVA, V.; MESAROS, P.; BIRES, J.; LEDECKY, V.; CIGANEK, J.; TOMAJKOVA, E. (1998)  
Morphological structure of the testes in stallions at zinc deficiency  
Slov. Vet. J. 23, 97-100
- CLAUSEN, J.; OLIVER, B. (1965)  
Lactate dehydrogenase isoenzymes of human semen  
Biochem. J. 97, 513-517



COLAGAR, A.H.; MARZONY, E.T.; CHAICHI, M.J. (2009)

Zinc levels in seminal plasma are associated with sperm quality in fertile and infertile men

Nutr. Res. 29, 82-88

COLEMAN, J. E. (1998)

Zinc Enzymes

Curr. Opin. Chem. Biol. 2, 222-234

COLENBRANDER, B.; FAZELI, A. R.; VAN BUITEN, A.; PARLEVLIET, J.;

GADELLA, B. M. (1992)

Assessment of sperm cell membrane integrity in the horse

Acta. Vet. Scand. Suppl. 88, 49-58

COMHAIRE, F. H.; DEKRESTER, D.; FARLEY, T.M.M.; ROVE, P.J. (1987)

Towards more objectivity in diagnosis and management of male infertility

Int. J. Androl. 5, 5-8

COMHAIRE, F. H.; VERMEULEN, L.; PIETERS, O. (1989)

Study of the accuracy of physical and biochemical markers in semen to detect infectious dysfunction of the accessory sex glands

J. Androl. 10, 50-53

DAVID, D.J. (1960)

The determination of exchangeable sodium, potassium, calcium and magnesium in soils by atomic-absorption spectrophotometry

Analyst., 85, 495

DE LAMIRANDE, E.; GAGNON, C. (1995)

Impact of reactive oxygen species on spermatozoa: a balancing act between beneficial and detrimental effects

Hum. Repro. 10, 15-21

DE SOUZA, F. F.; MARTINS, M. I.; LOPES, M. D. (2006)

Vasectomy effect on canine seminal plasma biochemical components and their correlation with seminal parameters

Theriogenology 66, 1621-1625

DE SOUZA, BARRETO, C.S.; LOPES, M.D. (2007)

Characteristics of seminal plasma proteins and their correlation with canine semen analysis

Theriogenology 68, 100-106

DELLMANN, H. D.; WROBEL, K. H. (1987)

Male reproductive system

In: DELLMANN, H. D.; BROWN, E. M. (Hrsg.): Textbook of Veterinary Histology (3th edn.)

Lea & Febiger, Philadelphia, 303

DOGAN, I.; POLAT, U.; NUR, Z. (2009)

Correlations between seminal plasma enzyme activities and semen parameters in seminal fluid of Arabian horses

IJVR, Shiraz University, Vol. 10, No. 2, Ser. No. 27

DREIER, H.K. (2005)

Genitaltrakt, Untersuchungsmethoden bei Kleintieren

In: KRAFT, W., DÜRR, M. (Hrsg.): Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin, 6. Auflage

Schattauer Verlag, Stuttgart, 225-229

DUBE, J.Y.; LAZURE, C.; TREMBLAY R.R. (1986)

Dog prostate arginine esterase is related to human prostate-specific antigen

Clin. Invest. Med. 9, 51-54

DUBE, J.Y.; FRENETTE, G.; CHAPDELAIN, P.; PAQUIN, R.; TREMBLAY, R.R. (1987)

Biochemical characteristics of proteins secreted by dog prostate: a review

Exp. Biol. 43, 149-159

DUBIEL, A.; KROLINSKI, J.; KARPIAK, C. (1982)

Activity of gamma-glutamyltransferase, alkaline phosphatase and aspartate aminotransferase in the ejaculates of rabbits before and after elimination of the testes, epididymides and vasa deferentia secretions

Medycyna Wet. 38, 608-610

EDORH, A.P.; TACHEV, K.; HADOU, T.; GBEASSOR, M.; SANNI, A.; CREPPY, E.E. et al. (2003)

Magnesium content in seminal fluid as an indicator of chronic prostatitis

Cell. Mol. Biol. 49, 419-423

EIDI, M.; EIDI, A.; POUYAN, M. D.; SHAHMOHAMMADI, M.; FAZAELI, R.; BAHAR, M. (2010)

Seminal plasma levels of copper and its relationship with seminal parameters

IJRM 8, 60-65

EL-NAGGAR, V. M. A. (1975)

Comparison of phosphatase activity in the seminal plasma of different types of domestic livestock in Egypt

Dtsch. Tierärztl. Wochenschr. 82, 322-344

ELZANATY, S.; RICHTHOFF, J.; MALM, J.; GIWERCMAN, A. (2002)

The impact of epididymal and accessory gland function on sperm motility

Hum. Reprod. 2002, 2904-2911

ENGLAND, G.C.W.; ALLEN, W.E. (1989)

Seminal characteristics and fertility in dogs

Vet. Rec. 125, 399

ENGLAND, G.C.W.; ALLEN, W.E. (1990)

An investigation into the origin of the first fraction of the canine ejaculate

Res. Vet. Sci. 49, 66-70

ERBING, R. (1988)

Beitrag zur Bestimmung blut- und seminalplasmatischer Parameter von Deck- und Besamungsebern

Vet. Med. Dissertation, Gießen

FARREL; J.I.; LYMAN, Y. (1937)

A study of the secretory nerves of, and the action of the certain drugs on, the prostate gland

Am. J. Physiol. 118, 64

FAWCETT, W.J.; HAXBY, E.J.; MALE, D.A. (1999)

Magnesium: physiology and pharmacology

Br. J. Anaesth. 83, 302-320

FOOTE, R. H. (1964)

The influence of frequency of semen collection, fractionation of the ejaculate, and dilution rate on the survival of stored dog sperm

Cornell. Vet. 54, 89-97

FRENETTE, G.; DUBÉ, J. Y.; TREMBLAY, R. R. (1986)

Origin of alkaline phosphatase of canine seminal plasma

Arch. Androl. 16, 235–241

GASSE, H. (2004)

Männliche Geschlechtsorgane

In: NICKEL, R.; SCHUMMER, A.; SEIFERLE, E. (Hrsg.): Lehrbuch der Anatomie der Haustiere, Band 2, Eingeweide, 9.Auflage

Parey Verlag, Stuttgart, 352-353

GASTAUER, R. (1974)

Beitrag zu Enzymaktivitäten und Elektrolytkonzentrationen im Blutserum und Seminalplasma beim Bullen

Vet. Med. Dissertation, München

GELMINA, C.; LUVONI, G.C.; BIONDI, P.A. (1999)

Valutazioni fosfatasi alcaline e della Lcaritina nel plasma seminale di cani normali e vasectomizzati

Atti. Della Società Italiana delle Sci. Vet. 85-86

GNDOU' AN, M. (2006)

Some reproductive parameters and seminal plasma constituents in relation to season in Akkaraman and Awassi rams

Turk. J. Vet. Anim. Sci. 30, 95–100

GOBELLO, C.; CASTEX, G.; CORRADA, Y. (2002)

Serum and seminal markers in the diagnosis of disorders of the genital tract of the dog: a mini-review

Theriogenology 57, 1285–1291

GOODWIN, M.; GOODING, K. M.; REGNIER, F. (1979)

Sex pheromone in the dog

Science 203, 559–561

GORUS, F.K.; PIPER, D.G. (1981)

A rapid method for the fractionation of human spermatozoa according to their progressive motility

Fertil. Steril. 35, 662-665

GRANDAGE J. (1972)

The erect dog penis: a paradox of flexible rigidity

Vet. Rec. 91, 141-147

GUNAY, U.; POLAT, U.; GUNES, N.; SOYLU, M.K.; KIL, F. (2003)

The effects of short-interval ejaculation on semen quality and some biochemical parameters in dogs

Revue Méd. Vét. 154, 459-462

GÜNZEL-APEL, A.R. (1994)

Der Zuchtrüde

In: GÜNZEL-APEL, A.R. (Hrsg.): Fertilitätskontrolle und Samenübertragung beim Hund

Gustav Fischer Verlag, Jena, Stuttgart, 26-29

HAMAMAH, S.; GATTI, J. L. (1998)

Role of the environment and internal pH on sperm activity

Hum. Reprod. Suppl. 4, 20-30

HARROP, A.E. (1954)

A new type of canine artificial vagina

Brit. Vet. J.110, 194

HATIER, R.; MALAPRADE-BAUDOIN, D.; GRIGNON, G. (1994)

Gamma-GT activity in the rat epididymis: effect of LHRH agonist (D-Trp 6-LHRH)

Arch. Androl. 33, 31–38

HEKMAN, A.; RÜMKE, P. (1968)

The antigens of human seminal plasma

Prot. Biol. Fluids 16, 549-552

HENKEL, R.; BITTNER, J.; WEBER, R; HÜTHER, F.; MISKA, W. (1999)

Relevance of zinc in human sperm flagella and its relation to motility

Fert. Steril. 71, 1138-1143

HILLMANN, K.H.; TREU, H. (1973)

Darstellung und Messung morphologischer und enzymatischer Veränderungen beim Tiefgefrieren von Eberspermien

Zuchthygiene 8, 105-112

HOFFMANN, B. (2003)

Samengewinnung und Beurteilung

In: HOFFMANN, B. (Hrsg.): Andrologie, Physiologie, Pathologie und Biotechnologie der männlichen Fortpflanzung

Berlin, Lehmann Medien, 17-18

HOFFMANN, W. E.; KRAMER, J.; MAIN, J. R., TORRES, J. L. (1989)

Clinical Enzymology

In: LOEB, W. F.; QUIMBY, F. W. (Hrsg.): The clinical chemistry of laboratory animals, 2<sup>nd</sup> Edition

Pergamon Press New York, 248-252

HORI, T.; ICHIKAWA, M.; KAWAKAMI, E.; TSUTSUI, T. (2003)

Artificial insemination of frozen epididymal sperm in beagle dogs

J. Vet. Med. Sci. 66, 37-41

HUANG, Y. L.; TSEN, W. C.; CHENG, S. Y.; LIN, T. H (2000)

Trace elements and lipid peroxydation in human seminal plasma

Biol. Trace Element Res. 76, 207–215

JAMES, R.W.; HEYWOOD, R.; STREET, A. E. (1979)

Biochemical observations on beagle dog semen

Vet. Rec. 104, 480-482

JANSSEN, J.; LAATZ, W. (2007)

Nichtparametrische Test

In: JANSSEN, J.; LAATZ, W. (Hrsg.): Statistische Datenanalyse mit SPSS für Window, 6. Auflage

Springer- Verlag, Berlin, Heidelberg, 559-594

JOHNSTON, S. D. (1991)

Performing a complete canine semen evaluation in a small animal hospital

Vet. Clin. North. Am. Small. Anim. Pract. 21, 545–551

KARESKOSKI, M.; KATILA, T. (2008)

Components of stallion seminal plasma and the effects of seminal plasma on sperm longevity

Anim. Reprod. Sci. 107, 249-256

KARESKOSKI, M.; REILAS, T.; SANKARI, S.; ANDERSSON, M.; KATILA, T. (2005)

Composition of fractionated stallion ejaculates

Anim. Reprod. Sci. 89, 228-230

KELLER, V. P.; FREUDIGER, U. (1984)

Enzymaktivitäten im Urin, im Liquor cerebrospinalis, in der Blasengalle, im Speichel und im Ejakulat des Hundes

Kleintierpraxis 29, 15-34

KOHDAIRA, T.; KINOSHITA, Y.; KONNO, M.; OSHIMA, H. (1986)

Distribution of G-Glutamyl-Transpeptidase in male reproductive system of rat and its age – related changes

Andrologia 18, 610-617

KORNBLATT, M. J.; KLUGERMAN, A.; NAGY, F. (1983)

Characterization and localization of alkaline phosphatase activity in rat testes

Biol. Reprod. 29, 157-164

KUTZLER, M.A.; SOLTER, P.F.; HOFFMAN, W.E.; VOLKMANN, D.H. (2003)

Characterization and localization of alkaline phosphatase in canine seminal plasma and gonadal tissues

Theriogenology 60, 299-306

KUTZLER, M. A. (2005)

Semen collection in the dog

Theriogenology 64, 747-754

KÜPFER, U. (1972)

Untersuchungen über Phosphataseaktivitäten des Samenplasmas gesunder Bullen  
Zuchthygiene 7, 145-152



LAN, Z. J.; LABUS, J. C.; HINTON, B. T. (1998)

Regulation of gamma-glutamyl-transpeptidase catalytic activity and protein level in the initial segment of the rat epididymis by testicular factors: role of basic fibroblast growth factor

Biol. Reprod. 58, 197-206

LEE, P. C.; HO, P.; JELINEK, B. H.; STRUVE, M.; (2000)

Modulation of rat epididymal gamma-glutamyl transpeptidase by nonylphenols  
Xenobiotica 30, 771–779

LEONHARD-MAREK, S. (2001)

Spurenelemente und Fertilität

In: BUSCH, W.; HOLZMANN, A. (Hrsg.): Veterinärmedizinische Andrologie, Physiologie und Pathologie der Fortpflanzung bei männlichen Tieren, 1. Auflage  
Schattauer- Verlag Stuttgart, 474-483

LIEBICH H. G, BÖCK P, BUDRAS K. D. (2010)

Männliche Geschlechtsorgane (Organa genitalia masculina)

In: LIEBICH H. G, BÖCK P, BUDRAS K. D. (Hrsg.): Funktionelle Histologie der Haussäugetiere und Vögel, 5. Auflage  
Schattauer-Verlag Stuttgart New York, 312-317

LINDE-FORSBERG, C. (1995)

Artificial insemination with fresh, chilled extended, and frozen-thawed semen in the dog

Semin. Vet. Med. Surg. (Small Animal) 10, 48-58

LOGOGLU, G.; KENDIRCI, A.; ÖZGÜNEN, T. (1997)

The role of seminal calcium in male infertility

J. Islam. Aca. Sci. 10, 25-27

LOPATA, A.; PATULLO, M.J., CHANG, A.; JAMES, B. (1976)

A method for collecting motile spermatozoa from human semen

Fertil. Steril. 27, 677-684

LÓPEZ, M.L.; GREZ, P.; GRIBBEL, I.; BUSTOS OBREGÓN, E. (1989)

Cytochemical and ultrastructural characteristics of the stallion Epididymis (*Equus caballus*)

J. Submicrosc. Cytol. Pathol. 21, 103-120

MACPHERSON, J.W., PENNER, P. (1967)

1. Reaction of Animals to Collection of Semen and Insemination Procedures

Can. J. Comp. Med. Vet. Sci. 31, 62-64

MALTARIS, T.; DITTRICH, R.; WIDJAJA, W.; SINDHUWINATA, C.; HOFFMANN, I.;  
BECKMANN, M.; MUELLER, A. (2006)

The role of oestradiol in the peristalsis intue perfused swine uterus

Reprod. Dom. Anim. 41, 522-526

MANKAD, M.; SATHAWARA, N.G.; DOSHI, H.; SAIYED, H.N., KUMAR, S. (2006)

Seminal plasma zinc concentration and alpha- glucosidase activity with respect to semen quality

Biol. Trace Elem. Res. 110, 97-106

MANN, T. (1964)

Chemical and Physical Properties of Ejaculated Semen in Different Species,  
Protein Constituents and Enzymes of the Seminalplasma

In: MANN, T. (Hrsg.): The biochemistry of Semen and of the male reproductive tract,  
1<sup>st</sup> edn.

Methuen LTD London, John Wiley & Sons Inc. New York, 113-115, 186

MANN, T.; LUTWAK-MANN, C. (1981)

Biochemistry of Seminal Plasma and Male Accessory Fluids; Application to andrological problems

In: MANN, T.; LUTWAK-MANN, C. (Hrsg.): Male Reproductive Function and Semen  
Springer- Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 269-336

MARCO-JIMÉNEZ, F.; VICENTE, J.S., VIUDES-DE-CASTRO, M.P. (2008)

Seminal Plasma Composition from Ejaculates Collected by Artificial Vagina and Electroejaculation in Guirra Ram

Reprod. Dom. Anim. 43, 403-408

MARMAR, J.L.; KATZ, S.; PRAISS, D.E.; DeBENEDICTIS, T.J. (1975)

Semen zinc levels in infertile and postvasectomy patients and patients with prostatitis  
Fertil. Steril. 26, 1057-1063

MASSNYI, P.; TRANDZIK, J.; NAD, P.; TOMAN, R.; SKALICK, M.; KORNEKOV, B. (2003)

Seminal concentrations of trace elements in various animals and their correlations  
Asian J. Androl., 101-104

MATTHEEUWS, D.R.; VERHAEGHE, B.J.; BORGHIJS, H.; COMHAIRE, F. (1990)

The significance of alkaline phosphatase activity in dog semen and accessory sex glands

Proceedings of the 4<sup>th</sup> Congress of the International Society for Animal Clinical Biochemistry, 171-178

MICHELMANN, H.W.; HINNEY, B. (1994)

Spermaaufbereitungstechniken

Fertilität 10, 135-141

MOLLO, A.; BOSISIO, P. AVEZZA, F.; LUVONI, C.G. (1997)

Concentrazione della fosfatasi alcalina nel plasma seminale del cani

Atti della Società Italiana delle Sci. Vet., 171-172

MURDOCH, R.N.; WHITE, I.G. (1967)

Studies of the distribution and source of enzymes in mammalian semen

Aust. J. bio. Sci. 21, 483-490

OETTLÉ, E. E. (1993)

Sperm morphology and fertility in the dog

J. Reprod. Fert. Suppl. 47, 257-260

OHL, D.A.; DENIL, J.; CUMMINS, C.; MENGE, A.C.; SEAGER, S.W. (1994)

Electroejaculation does not impair sperm motility in the beagle dog: a comparative study of electroejaculation and collection by artificial vagina

J. Urol. 152, 1034-1037

OLSON, P. N. (1989)

Exfoliative cytology of canine reproductive tract

In: Proceedings of the Society for Theriogenology, 274

OLSON, P. N. (1991)

Clinical approach to evaluating dogs with azoospermia or aspermia

Vet. Clin. North. AM 21, 591-608

Plenum Publ., New York

OMU, A.E.; BADER, A.A.; DASHTI, H. ORIOWO, M.A. (2001)

Magnesium in human semen: possible role in premature ejaculation

Arch. Androl. 46, 59-66

ORLANDO, C.; CASANO, R.; CALDINI, A.L.; FORTI, G.; BARNI, T.; BONFANTI, L.; SERIO, M. (1988)

Measurement of Seminal LDH-X and Transferrin in Normal and Infertile Men

J. Androl. 9, 220-223

PACE, M. M.; GRAHAM, E. F. (1970)

The release of glutamic oxalacetic transaminase from bovine spermatozoa as a test method of assessing semen quality and fertility

Biol. Reprod. 3, 140-146

PANDY, V. K.; PARMESHWARAN, M.; SOMAN, S.D., DACOSTA, J. C. (1983)

Concentrations of morphologically normal, motile spermatozoa: Mg, Ca and Zn in the semen of infertile men

Sci. Total. Environ. 27, 49-52

PAULSON, J.D., POLAKOSKI, K.L. (1977)

A glass wool procedure for removing extraneous material from the human ejaculate

Fertil. Steril. 28, 178-181

PESCH, S. K. (2005)

Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen am Hengstejakulat sowie biochemische Analysen des Seminalplasmas

Dissertation, Justus-Liebig-Universität, Giessen

PESCH, S.; BERGMANN, M.; BOSTEDT, H. (2006)

Determination of some enzymes and macro-and microelements in stallion seminal plasma and their correlation to semen quality

Theriogenology 66, 307-313

PESCH, S.; SCHULER, G.; WILHELM, E.; HOFFMANN, B. (2007)

Samengewinnung, -konservierung und künstliche Besamung beim Hund

Tierärztl. Praxis 35 (K), 81-90

PETZOLDT, R. (2001)

Akzessorisches Sekret

In: BUSCH, W.; HOLZMANN, A. (Hrsg.): Veterinärmedizinische Andrologie, 1.

Auflage

Schattauer-Verlag, Stuttgart, New York, 55-66

POLAKOSKI, K. L.; KOPTA, M. (1982)

Seminal Plasma

In: ZANEVELD, L. J. D.; CHATTERTON, R. T. (Hrsg.): Biochemistry of mammalian reproduction

Wiley Interscience Publication, 89-117

PRIEN, S.D.; LOX, C.D.; MESSER, R.H., DeLEON, F.D. (1990)

Seminal concentrations of total and ionized calcium from men with normal and decreased motility

Fertil. Steril. 54, 171-172

QUINN, P.J.; WHITE, I.G.; WIRRICK, B.R. (1965)

Studies of the distribution of the major cations in semen and male accessory secretions

J. Reprod. Fertil. 10, 379-388

QUINN, P. J.; WHITE, I. G. (1967)

Active cation transport in dog spermatozoa

Biochem. J. 104, 328-331

RIESENBECK, A.; VÖGLER, D.; HOFFMANN, B.; (2001)

Praxisnahe Bestimmung von Vitalitätsparametern zur Beurteilung von Rüdensperma

Tierärztl. Prax. 29, 116-120

ROOT KUSTRITZ, M.V. (2007)

The value of canine semen evaluation for practitioners

Theriogenology 68, 329-337

ROUS, P.; JELINEK, P. (2000)

The effect of increased soil contamination with heavy metals on their content in some rabbit tissues

Cz. J. Anim. Sci. 45, 319-324

ROUSSEL, J. D.; STALLCUP, O. T. (1965)

Parallelism between semen characteristics and glutamic-oxalacetic transaminase, glutamic pyruvic transaminase activity

J. Dairy Sc. 48, 1684-1687

SALEH, R. A., AGARWALL, A. (2002)

Oxidative stress and male infertility: from research bench to clinical practice

J. Andol. 23, 737-752

SCHÄFER-SOMI, S.; BLICKENS DÖRFER, L.; SCHWENDENWEIN, I. (2011)

Canine semen quality and ions, albumin, and cholesterol in seminal plasma

Reprod. Dom. Anim. 46, 148

SCHÄFER-SOMI, S.; FRÖHLICH, T.; SCHWENDENWEIN, I. (2012)

Measurement of Alkaline Phosphatase in Canine Seminal Plasma – An Update

Reprod. Dom. Anim. doi: 10.1111/j. 1439-0531. 2012.02025. x

SCHMIDT, E.; SCHMIDT, F. (1974)

The importance of enzymatic analysis in medicine

In: BERGMEYER, H. U. (Hrsg.): Methods of Enzymatic analysis, 2<sup>nd</sup> Eng. edn.

Verlag Chemie, Weinheim, 6-14

SEAGER, S. W. J. (1986)

Artificial insemination in dogs

In: BURKE, T. J. (Hrsg.): Small Animal Reproduction and Infertility: a Clinical Approach to Diagnosis and Treatment

Lea & Febiger, Philadelphia, 207-217

SELIGMAN, J.; GERALD, L.; NEWTON, G.; ROBERT C.; FAHEY, C.; SHALGI, R.; NECHAMA, S. (2005)

Nonproteins Thiols and Disulfides in Rat Epididymal Spermatozoa and Epididymal Fluid: Role of Y-Glutamyl-Transpeptidase in Sperm Maturation

J. Androl., 26, No 5, 638-640

SKANDHAN, K.P.; MAZUMDAR, B.N. (1979)

Semen copper in normal and infertile subjects

Experientia 35, 877-878

SKANDHAN, K.P.; MAZUMDAR, B.N. (1981)

Correlation of sodium and potassium in human seminal plasma with fertilizing capacity of normal, and infertile subjects

Andrologia 13, 147-154

SOUCEK, D.; VARY, J. (1984)

Some properties of acid and alkaline phosphatases from boar sperm plasma

Membranes

Biol. Reprod. 31, 687-693

STANGL, G.I. (2011)

Mineralstoffe, Vitamine und sonstige Wirkstoffe

In: KIRCHGESSNER, M. (Hrsg.): Tierernährung, 13. Auflage

DLG-Verlag Frankfurt a. M., 194

STANWELL-SMITH, R.; THOMPSON, S.G.; HAINES, A. P.; WARD, R. J.;

CASHMORE, G.; STEDRONSKA, J.; HENDRY, W. F. (1983)

A comparative study of zinc, copper, cadmium, and lead levels in fertile and infertile men

Fertil. Steril. 40, 670-677

STORNELLI, A.; ARAUZ, S.; BASCHARD, H.; CASTEX, G.; GLOBELLO, C.;

CORRADA, Y. (2000)

Evaluación de fosfatasa alcalina en semen de perros normales y con ligadura unilateral y bilateral del conducto deferente

Congresso Brasileiro de Clinicos Veterinarios de Pequenos Animais,

Rio de Janeiro, Brazil, 87



STORNELLI, A.; ARAUZ, M.; BASCHARD, H., DE SOTA, R. L. (2003)

Unilateral and bilateral vasectomy in the dog: alkaline phosphatase as an indicator of tubular patency

Reprod. Domest. Anim. 38, 1–4

TAUBER, P. F.; ZANEVELD, L. J. D.; PROPPING, D.; SCHUMACHER, G. F.B. (1975)

Components of human split ejaculates. Spermatozoa, fructose, immunoglobulins, albumin, lactoferrin, transferrin and other plasma proteins

J. Reprod. Fertil. 43, 249-267

TEA, N.T.; JONDT, M.; SCHOLLER, R. (1983)

A migration gravity sedimentation method for collecting human motile spermatozoa

In: HARRISON, R.F.; BONNARAUD, J.; THOMPSON, W. (Hrsg.): Vitro Fertilization, Embryo Transfer and Early Pregnancy

MTP Press. Ltd., Aylesbury, England, 117-120

TERNER, C.; MACLAUGHLIN, J.; SMITH, B. R. (1975)

Changes in lipase and phosphatase activities of rat spermatozoa in transit from the caput to cauda epididymis

J. Reprod. Fertil 45, 1-8

TOUTENBURG, H., KNÖFEL, P. (2009)

Grafische Darstellungsmöglichkeiten, Kapitel 3.2.9

In: TOUTENBURG, H., KNÖFEL, P. (Hrsg.): Six Sigma: Methoden und Statistik für die Praxis, 2. Auflage

Springer- Verlag Berlin Heidelberg, 99-101

TURNER R. M. O, McDONNELL S. M (2003)

Alkaline phosphatase in stallion semen: characterization and clinic applications.

Theriogenology 60, 1-10

TURNER, R.M.O; McDONNELL, S.M. (2003)

Alkaline Phosphatase in stallion semen: characterization and clinical applications

Theriogenology 60, 1-10

TURNER, R. M.; SERTICH, P. L. (2001)

Use of alkaline phosphatase activity as a diagnostic tool in stallions with azoospermia and oligospermia

Anim. Reprod. Sci. 68, 315-316

VERMA, D.K.; ROUTRAY, P.; DASH, C.; DASGUPTA, S.; JENA, J.K. (2009)

Physical and Biochemical Characteristics of Semen and Ultrastructure of Spermatozoa in Six Carp Species

Turk. J. Aquat. Sci. 9, 67-76

WALES, R.G.; WHITE, I.G. (1965)

Some observations on the chemistry of dog semen

J. Reprod. Fertil. 9, 69-77

WABERSKI, D. (2007)

Spermien und Seminalplasma

In: BUSCH, W.; WABERSKI, D. (Hrsg.): Künstliche Besamung bei Haus- und Nutztieren

Schattauer-Verlag, New York, Stuttgart, S. 78-82

WEITZE, K. F, (2001)

Spermatologische Untersuchung

In: BUSCH, W.; HOLZMANN, A. (Hrsg.): Veterinärmedizinische Andrologie,

Physiologie und Pathologie der Fortpflanzung bei männlichen Tieren, 1. Auflage

Schattauer-Verlag Stuttgart, 87-111

WONG, W.Y.; FLIK, G.; GROENEN, P.M.; SWINKELS, D.W.; THOMAS, C.M.;  
COPIUS- PEEREBOOM, J.H.; MERKUS, H.M. STEEGERS – THEUNISSEN, R.P.  
(2001)

The impact of calcium, magnesium, zinc, and copper in blood and seminal plasma on  
semen parameters in men

Reprod. Toxicol. 15, 131- 136

WYROBEK, A.; BRODSKY, J.; GORDON, L.; MOORE, D.; WATCHMAKER, G.;  
COHEN, E. (1981)

Sperm studies in anesthesiologists

Anesthesiology 55, 527

WYSOCKI, P.; STRZEZEK, J. (2000)

Molecular forms of acid phosphatase of boar seminal plasma

Anim. Sci. Papers and Reports 18, 99-106

YOUSEF, M.I.; ABDALLAH, G.A., KAMEL, K.I. (2003)

Effect of ascorbic acid and vitamin E supplementation on semen quality and  
biochemical parameters of male rabbits

Anim. Reprod. Sci. 76, 99–111

ZHAO, R.P.; XIONG, C.L. (2005)

Zinc content analysis in serum, seminal plasma and spermatozoa of  
asthenozoospermic and oligoasthenozoospermic patients

Zhonghua Nan. Ke. Xue. 11, 680-682

---

## **Danksagung**

Mein herzlichster Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. vet. Axel Wehrend für die Vergabe dieses interessanten Dissertationsthemas. Ich danke Ihnen für die ausgezeichnete Betreuung und Unterstützung während der Anfertigung dieser Arbeit.

Ich danke Frau Dr. Sandra Goericke-Pesch, die immer ein offenes Ohr hatte und mir stets mit hilfreichen Tipps und Ratschlägen sowie motivierenden Worten zur Seite stand. Deine Hilfsbereitschaft ist grenzenlos!

Des Weiteren danke ich den Labordamen Simone Heerdt, Julia Blad-Stahl und Franziska Sechser für die großartige Unterstützung bei der Durchführung meiner Versuchsreihe, die Dank Euch nicht nur mit dem nötigen Ernst, sondern auch mit viel Spaß verbunden war.

Lieber Herr Holger Wunderlich, vielen Dank für Ihre unermüdliche Geduld und Ihre exzellente Auswertung meiner Daten. Ohne Sie wäre ich so manches Mal an der Statistik verzweifelt.

Roland, vielen Dank für die gründliche Korrektur meiner Arbeit. Zudem könnte sie ohne Euch und Eure Zucht nicht dieses Titelfoto tragen.

Herzlichen Dank außerdem an alle anderen fleißigen Korrekturleser, die mich auf Fehler und Unstimmigkeiten hingewiesen haben.

Danke Thomas für deine hervorragenden EDV- Kenntnisse, durch die meine Dissertation den nötigen „Schliff“ erhielt.

Sarah, ich werde die Zeit mit Dir in Gießen vermissen!

Ich danke meiner Familie, besonders Kristina, für die ständige Unterstützung und Motivation.

---

Liebe Mama, lieber Papa, ich danke Euch für alles. Ich kann mich glücklich schätzen, einen Vater zu haben, der stets an mich und meine Fähigkeiten geglaubt hat und eine Mutter, die diese mit besonderer Hingabe und mit allen ihr zur Verfügung stehenden Mitteln gefördert hat. Ihr seid großartig!

---

Ich erkläre:

Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig 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 Stellen 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.

Anna-Lena Vogel



*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: 978-3-8359-5930-9

