

Eva-Maria Katzler  
Dr. med.

## **Über die Bedeutung von Zink, Relaxin und Thymosin $\alpha$ 1 für die männliche Fertilität**

Geboren am 08.06.1976 in Schwetzingen  
Reifeprüfung am 27.06.1995 in Hockenheim  
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1995/96 bis SS 2002  
Physikum am 11.09.1997 an der Universität Heidelberg  
Klinisches Studium in Heidelberg  
Praktisches Jahr in Bruchsal  
Staatsexamen am 29.04.2002 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Frauenheilkunde  
Doktormutter: Frau Prof. Dr. med. W. Eggert-Kruse

Zink ist ein für das menschliche Immunsystem essentielles Spurenelement, welches im Serum (SR) und in vielfach höheren Konzentrationen auch im Seminalplasma (SP) nachweisbar ist. Es soll eine vielschichtige Rolle für den oxidativen Metabolismus und die Funktion der Spermatozoen spielen. Des weiteren wird ihm ein antiinflammatorisches Potential zugeschrieben. Während die Einflüsse von Zink im SP auf die Spermogrammparameter kontrovers diskutiert werden, weiß man sehr wenig über Zink und seine Einflüsse auf die funktionelle Spermienqualität und die Fertilisationskapazität. Auch die Zusammenhänge mit der mikrobiellen Kolonisation des SP und der Zahl der Leukozyten (LC) im SP als Indikatoren für subklinische Infektionen sind bislang unklar. Während die Bedeutung des Relaxins bei der Frau bekannt ist, gibt es nur wenige Informationen über seine Rolle im männlichen Genitaltrakt. Relaxin ist ein strukturelles Homologon einiger Wachstumsfaktoren, dem eine Beeinflussung der Spermienprogression und -motilität nachgesagt wird. Man weiß jedoch nur wenig über eine Beeinflussung der intrinsischen Motilität und der Fertilität. Thymosin  $\alpha$  1 ist ein Immunmodulator, der nicht nur im SR, sondern auch im SP zu finden ist, und über dessen Bedeutung für die Spermienqualität und Fertilität sowie für die Zahl der LC im SP bislang wenig bekannt ist.

Für die vorliegende prospektive Studie wurden Sperma- und Serumproben von 314 zufällig ins Kollektiv aufgenommenen klinisch asymptomatischen Männern von Paaren mit unerfülltem Kinderwunsch (Median 3 Jahre) nach einer sexuellen Karenz von mindestens 5 Tagen in der Klinik gewonnen. Am selben Tag wurde eine klinische Untersuchung und Anamneseeerhebung beider Partner vorgenommen. Die Zinkwerte im SP und SR der Männer wurden mittels Flammen-Atom-Absorptions-Spektroskopie (FAAS), die Relaxinspiegel in SP und SR mittels eines homologen Humanrelaxin-Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay (ELISA) und die Thymosinwerte im SP mittels eines kompetitiven Enzyme-Immuno-Assay (EIA) bestimmt. Spermavolumen, Spermienzählung, progressive Motilität, Morphologie, Vitalität, pH-Wert, Volumen, Fruktose und Citronensäure im SP wurden gemäß der WHO-Kriterien ermittelt. Der Spermien-Zervikalmukus-Penetrationstest (SCMPT) wurde in vitro unter hormonell standardisierten Bedingungen der Frau und der Postcoitaltest (PCT) in vivo durchgeführt. Beide Tests dienen als Parameter der funktionellen Spermienqualität. Ein mikrobiologisches Screening beider Partner wurde durchgeführt. Zur Differenzierung der Rundzellen (RC) im SP wurde eine immunocytochemische Methode gewählt, so daß die Zahl der LC im SP und die LC/RC-Ratio ermittelt werden konnte. Mittels Mixed-Antiglobulin-Reaktion (MAR) wurde das Sperma auf lokale Anti-Spermatozoen-Antikörper (ASA) der Klassen IgG und IgA untersucht. Die Fertilität der Paare wurde 6 Monate nach dem

jeweiligen Erstuntersuchungstag unter Beachtung der weiblichen Fertilitätsfaktoren erfragt. Für die statistischen Analysen wurden der Spearman-Rangsummentest, der  $\chi^2$ -Test, der Fisher's Exact Test, der Wilcoxon-Test und der Kruskal-Wallis-Test verwendet.

Der Median des Zink<sub>SP</sub> lag bei 123 mg/l (Range 14,7 - 428 mg/l). Zink<sub>SP</sub> stand im vorliegenden Kollektiv von Männern mit unerfülltem Kinderwunsch in keinem signifikanten Zusammenhang mit den SpermioGrammparametern. Der pH-Wert des SP ( $r_s = -0,35$ ;  $p < 0,0001$ ) und die Fruktosekonzentration ( $r_s = -0,26$ ;  $p < 0,005$ ) korrelierten signifikant invers mit Zink<sub>SP</sub>. Es zeigte sich eine signifikant positive Korrelation des Zink<sub>SP</sub> mit der Citronensäurekonzentration ( $r_s = 0,33$ ;  $p < 0,0002$ ). Die funktionelle Spermienqualität stand im analysierten Patientengut in keinem Bezug zu Zink<sub>SP</sub>. Auch die mikrobiologischen Befunde standen in keinem Zusammenhang mit Zink<sub>SP</sub>. Bezüglich der LC-Zahlen und der LC/RC-Ratio im SP zeigten sich keine Zusammenhänge mit Zink<sub>SP</sub>. Die Anteile lokaler ASA standen in keinem Bezug zu Zink<sub>SP</sub>. Signifikante Zusammenhänge mit den Untersuchungs- und Anamneseparametern fanden sich nicht. Die Fertilität der Paare in diesem Kollektiv zeigte keinen Bezug zu Zink<sub>SP</sub>. Zink<sub>SP</sub> und Zink<sub>SR</sub> waren signifikant invers korreliert ( $r_s = -0,14$ ;  $p < 0,03$ ).

Die Konzentration von Zink<sub>SR</sub> lag zwischen 1 und 10 mg/l. Zusammenhänge mit den SpermioGrammparametern traten im vorliegenden Patientengut nicht auf. Die qualitativen Spermienfunktion stand in keinem Zusammenhang mit Zink<sub>SR</sub>. Ebenso fanden sich keine signifikanten Beziehungen zu den mikrobiologischen Befunden beider Partner. Insgesamt betrachtet waren keine eindeutig signifikanten Zusammenhänge des Zink<sub>SR</sub> mit der Zahl der LC im SP nachweisbar. Die Anteile lokaler ASA standen nicht in Zusammenhang mit Zink<sub>SR</sub>. Es war kein Bezug zu den Anamnese- und Untersuchungsparametern zu erkennen. Ein Zusammenhang von Zink<sub>SR</sub> mit der Fertilität der Paare war nicht nachweisbar.

Relaxin<sub>SP</sub> betrug im Median 1198,7 pg/ml (Range 5 - 15920 pg/ml). Zusammenhänge mit den SpermioGrammparametern und den Ergebnissen von PCT und SCMPT waren im analysierten Kollektiv nicht ersichtlich. Auch die mikrobiologischen Befunde, sowie die Zahl der LC im SP standen in keinem Bezug zu Relaxin<sub>SP</sub>. Es ließ sich kein Zusammenhang mit lokalen ASA eruieren. Untersuchungs- und Anamneseparameter sowie die Fertilität der Paare standen im vorliegenden Patientengut nicht in Zusammenhang mit Relaxin<sub>SP</sub>. Zink<sub>SP</sub> und Relaxin<sub>SP</sub> waren signifikant positiv korreliert ( $r_s = 0,29$ ;  $p < 0,0001$ ).

Relaxin<sub>SR</sub> lag im Median bei 25,7 pg/ml (Range 1,8 - 600 pg/ml). Insgesamt betrachtet bestand kein signifikanter Bezug zu den Parametern des SpermioGrammes im analysierten Kollektiv. Werte  $\geq 60$  pg/ml gingen gehäuft mit Fruktosekonzentrationen von  $< 1800$   $\mu$ g/ml einher ( $p < 0,023$ ), ein eindeutig signifikanter Bezug der Parameter blieb jedoch aus. Die qualitative Spermienfunktion stand in unserem Kollektiv nicht in Zusammenhang mit Relaxin<sub>SR</sub> und auch die mikrobiologischen Ergebnisse, die LC im SP sowie lokale ASA blieben unbeeinflusst vom Relaxin<sub>SR</sub>. Die Anamnese- und Untersuchungsparameter sowie die Fertilität der Paare standen in keinem Bezug zu Relaxin<sub>SR</sub>. Es bestand eine schwach inverse Korrelation von Relaxin<sub>SR</sub> mit Zink<sub>SR</sub> ( $r_s = -0,12$ ;  $p < 0,05$ ).

Der Median der Thymosin<sub>SP</sub> lag bei 84,3 ng/ml (Range 3,3 - 2266,2 ng/ml). Es ließen sich im untersuchten Kollektiv keine signifikanten Zusammenhänge von Thymosin<sub>SP</sub> mit den SpermioGrammparametern und den Ergebnissen von PCT und SCMPT ermitteln. Die Ergebnisse des mikrobiologischen Screenings standen in keinem Bezug zu Thymosin<sub>SP</sub>. Signifikante Korrelationen wurden mit der Leukozytenzahl/ml ( $r_s = 0,17$ ;  $p < 0,007$ ) und der Leukozytenzahl/Ejakulat ( $r_s = 0,18$ ;  $p < 0,004$ ) beobachtet. Bezüglich der Ergebnisse des MAR-Tests sowie der Anamnese- und Untersuchungsparameter waren im vorliegenden Patientengut keine Zusammenhänge mit Thymosin<sub>SP</sub> ersichtlich. Die Fertilität der Paare stand nicht in Zusammenhang mit Thymosin<sub>SP</sub>. Thymosin<sub>SP</sub> war signifikant invers mit Zink<sub>SR</sub> korreliert ( $r_s = -0,24$ ;  $p < 0,0001$ ).

Während eine Bestimmung der Zinkwerte in SP und SR bei klinischem Verdacht auf eine intestinale Malabsorption mit Zinkmangelzustand angebracht ist, kann sowohl die Bestimmung von Zink, als auch von Relaxin in SP und/oder SR anhand der in diesem Kollektiv von asymptomatischen Patienten mit Kinderwunsch gewonnenen Erkenntnisse für die routinemäßige Fertilitätsdiagnostik und die Diagnostik subklinischer Infektionen des Urogenitaltraktes nicht empfohlen werden. Insbesondere sollte die Rolle des Zinks in der Diagnostik und Therapie andrologisch bedingter Fertilitätsstörungen neu überdacht werden. Thymosin<sub>SP</sub> erscheint gemäß der Analysen des vorliegenden Patientengutes für die Fertilitätsdiagnostik ebenfalls ungeeignet. Der in unserem Kollektiv ermittelte signifikante Zusammenhang erhöhter Thymosin<sub>SP</sub> mit erhöhten LC im SP könnte ein Hinweis darauf sein, diesen Parameter eventuell zur erweiterten Diagnostik subklinischer Genitalentzündungen einzusetzen.