

Katja Zimmermann

Dr. med.

Über die Relevanz der PMN-Elastasebestimmung in Seminalplasma und Serum im Rahmen der Fertilitätsdiagnostik

Geboren am 16.03.1975 in Fürstenfeldbruck.

Staatsexamen am 13.10.2004 an der Universität Heidelberg.

Subklinische Infektionen des männlichen Genitaltraktes sind schwer diagnostizierbar und ihre klinische Relevanz ist unklar. In der Literatur wird eine mögliche Stimulation des Immunsystems infolge subklinischer Infektionen des Urogenitaltraktes diskutiert. Eine erhöhte Leukozytenzahl im Sperma gilt dabei als etablierter Parameter zum Nachweis von Entzündungen im Genitaltrakt des Mannes. Der Wert von Bakterienkulturen aus dem Ejakulat subfertiler Männer ohne klinische Anzeichen einer genitalen Infektion ist umstritten. Die PMN-Elastase, freigesetzt aus Granulozyten, hat in den vergangenen Jahren immer grössere Bedeutung im Zusammenhang mit klinisch stumm verlaufenden Entzündungsreaktionen erlangt. Bei der PMN-Elastase handelt es sich um eine Serinprotease mit Glykoproteinstruktur, die spezifisch zur Hydrolyse des Bindegewebsproteins Elastin in der Lage ist und somit zu einer Gewebeschädigung und zur Aktivierung von Entzündungsreaktionen beitragen kann. Ihr Zusammenhang mit dem Auftreten von Autoantikörpern gegen Spermatozoen ist jedoch unklar.

Zur Klärung potentieller Zusammenhänge wurden in der vorliegenden, prospektiven Studie in der Klinik Sperma- und Serumproben von 221 von Männern (Alter im Median 34 Jahre) subfertiler Paare mit unerfülltem Kinderwunsch (Median 3 Jahre) gewonnen. Alle Paare waren asymptomatisch bezüglich einer Genitalinfektion. Am selben Tag wurde zusätzlich eine genaue Anamneseerhebung und klinische Untersuchung der Männer vorgenommen. Dabei wurde die PMN-Elastasekonzentration im Seminalplasma mit Hilfe eines Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay (ELISA) bestimmt. Spermavolumen, Spermienzählung, progressive Motilität, Morphologie, Vitalität und pH-Wert im Seminalplasma wurden gemäss WHO-Kriterien ermittelt. Ausserdem wurden in diesen Proben die biochemischen Parameter wie z.B. Fructose, Citronensäure, α -Glucosidase und Zink bestimmt. Tests zur Ermittlung von Antispermatozoenantikörpern (ASA) unter Verwendung der Mixed-Antiglobulin-

Reaction (MAR) (klassischer „MAR“ mit „beschichteten“ Erythrozyten als Indikatorpartikel) um Antikörper der Klassen IgG und/ oder IgA aufzudecken, wurden ebenfalls angewendet. Weiterhin erfolgte ein mikrobiologisches Screening von Mann und Frau, mit besonderem Augenmerk auf typisch sexuell übertragene Mikroorganismen. Zur Differenzierung der Rundzellen (RC) wurde eine immunhistochemische Methode (monoklonale Antikörper/ Streptavidin/Biotin-System) gewählt, sodass die Zahl der Leukozyten (LC) im Seminalplasma und die LC/ RC-Ratio ermittelt werden konnte. Zur Beurteilung der funktionellen Spermienqualität wurde die Spermien-Mucus-Interaktion in einem standardisierten in vitro Testsystem (SCMPT) beurteilt. Zusätzlich fand der Postcoitaltest (PCT) zur Überprüfung der Spermien-Cervicalmucus-Interaktion in vivo Anwendung. Die PMN-Elastasekonzentration im Seminalplasma und aus Serumproben dieser Patienten wurde am selben Tag bestimmt. Die Fertilität der Paare wurde nach 6 Monaten unter Beachtung der weiblichen Fertilitätsfaktoren ermittelt.

Für die statistische Auswertung wurde der Spearman-Rangsummentest, der χ^2 -Test, der Fisher's two-tailed exact-, sowie der Wilcoxon Rangsummentest verwendet.

Der Median der PMN-Elastasekonzentration lag in den untersuchten Seminalplasmen bei 153,6 ng/ml. In 27,8 % der Fälle lagen hohe PMN-Elastasekonzentrationen im Seminalplasma von ≥ 500 ng/ml vor, in 9,1 % sehr hohe Spiegel von ≥ 800 ng/ml. Erhöhte PMN-Elastasekonzentrationen standen dabei nicht im Zusammenhang mit der Spermienanzahl, dem pH-Wert des Seminalplasmas, der Morphologie und der Vitalität, jedoch zeigte sich die progressive Motilität, besonders nach einer längeren Zeit der Beobachtung nach 2 und nach 4 Stunden, bei hohen PMN-Elastasekonzentrationen eher vermindert, jedoch ohne statistisch Signifikanzen zu erreichen. Erhöhte pH-Werte im Seminalplasma fanden sich zudem häufiger in Proben mit sehr hohen PMN-Elastasekonzentrationen (ns). Kein deutlicher Zusammenhang der PMN-Elastasekonzentration konnte mit den Seminalplasma-Spiegeln von Fructose, α -Glucosidase, Zink und Citronensäure gefunden werden. Ein signifikanter Zusammenhang der PMN-Elastasekonzentration mit lokalen Antispermatzoenantikörpern (ASA) der IgA- und IgG-Klassen als Marker für eine immunologisch bedingte Infertilität wurde ebenfalls nicht beobachtet. Die PMN-Elastasekonzentration zeigte keine Signifikanzen mit den Gesamtergebnissen des SCMPT als Parameter für die funktionelle Spermienqualität. Allerdings wies keine der Proben mit einer sehr hohen PMN-Elastasekonzentration im Seminalplasma (≥ 800 ng/ml) ein sehr gutes SCMPT-Resultat ($p < 0,05$) auf und bei den Proben fand sich ein schlechtes Ergebnis im gekreuzten in vitro SCMPT häufiger bei diesen Ejakulaten ($p < 0,003$). Die mikrobiologische Besiedlung stand in keinem Zusammenhang mit

den PMN-Spiegeln im Seminalplasma, jedoch war die Prävalenz von Mykoplasmen (10,2%) und von *Chlamydia trachomatis* (1,2%) gering.

Es bestand eine signifikante Korrelation zwischen den Leukozyten im Sperma und der PMN-Elastasekonzentration ($r = 0,17$ ($p < 0,04$) im Hinblick auf die Leukozytenzahl/ ml). Eine erhöhte Leukozytenrate an den Rundzellen im Seminalplasma ($\geq 3\%$ LC) fand sich signifikant häufiger in Proben mit hohen PMN-Elastasekonzentrationen ($p < 0,01$). Zu berücksichtigen ist jedoch, dass sich in 7,7% der Proben mit einer Leukozytospermie sehr niedrige PMN-Elastasekonzentrationen (< 150 ng/ml) fanden. Zudem zeigt sich in 24,6% der Proben ohne Leukozytospermie eine hohe PMN-Elastasekonzentration, sodass der Zusammenhang zwischen den Leukozyten und der PMN-Elastasekonzentration im Seminalplasma weniger deutlich als erwartet war ($r = 0,17$ und $p < 0,04$ für Leukozytenzahl pro ml).

In Serumproben ($n = 221$) lag der Median der PMN-Elastasekonzentration (127,7 ng/ml) etwas niedriger als der in den Proben aus dem Seminalplasma. Zwischen der PMN-Elastasekonzentration im Serum und im Seminalplasma konnte kein signifikanter Zusammenhang gefunden werden ($r = 0,12$, ns). Die PMN-Elastasekonzentration im Serum stand in keinem signifikanten Zusammenhang mit den Parametern des Spermioграмms, den Spermienfunktionstests in vitro und vivo (SCMPT, PCT), den biochemischen Parametern, sowie dem Auftreten lokaler ASA. Die Elastasekonzentration im Serum korreliert nicht mit der Leukozytenzahl und -rate (% LC) im Sperma, nicht mit der mikrobiellen Besiedlung der Ejakulate und stand ebenfalls nicht im Zusammenhang mit der späteren Fertilität der Paare.

Nach Betrachtung der Ergebnisse unserer Studie ist jedoch die routinemässige Bestimmung der PMN-Elastase im Serum bei asymptomatischen Patienten mit unerfülltem Kinderwunsch nicht besonders aussagekräftig. Die Messung der PMN-Elastase im Seminalplasma lässt sich zur Diagnostik subklinischer Infektionen/ Entzündungen einsetzen, allerdings sollte vor eventuellen therapeutischen Massnahmen der klinisch nicht besonders ausgeprägte Zusammenhang mit der Leukozytenanzahl und der Leukozytenrate im Sperma berücksichtigt werden. Wie die Beurteilung der klinischen Wertigkeit der PMN-Elastasebestimmung im Seminalplasma zusätzlich und/oder an Stelle der Leukozytenbestimmung bei klinisch symptomatischen Patienten zu bewerten ist, müssen weitere klinische Studien zeigen.