

Jörg Becker
Dr. med.

Biochemische Untersuchungen des menschlichen Seminalplasmas mittels der eindimensionalen ^1H -NMR-Spektroskopie

Geboren am 06.02.1967 in Neustadt an der Weinstraße

Reifeprüfung am 4.6.1986 in Neustadt an der Weinstraße

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1988 bis WS 1996

Physikum am 16.03.1990

Klinisches Studium in Heidelberg

Praktisches Jahr in Schwetzingen / Port Elizabeth – (Südafrika)

Staatsexamen am 23.04.1996 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Medizinische Biophysik

Doktorvater: Prof. Dr. Dr. H.R. Kalbitzer

Mittels der ^1H -1D-NMR-Spektroskopie wurde Seminalplasma von freiwilligen Spendern bei 500,13 MHz hinsichtlich der niedermolekularen Zusammensetzung untersucht. Es wurde versucht, jedem Signal in dem entstandenen Spektrum eine Substanz zuzuweisen. Anschließend wurden die Spektren unterschiedlicher Proben hinsichtlich der Signale und der zugeordneten Substanzen verglichen. Es konnten insgesamt 37 Substanzen im Sperma identifiziert werden, deren Resonanzfrequenzen sich vorwiegend im Bereich von 1-4.4 ppm abbilden. Das ^1H -NMR-Spektrum wird durch die Signale der Aminosäuren (Leucin, Isoleucin, Lysin, Threonin, Glutamin, Glutaminsäure) dominiert. Die Herkunft der Aminosäuren ist vermutlich durch den nach der Ejakulation stattfindenden enzymatischen Abbau der Peptide und Proteine zu erklären. In dieser Arbeit konnte zum ersten Mal auch Ascorbinsäure mit der NMR-Spektroskopie nachgewiesen werden, die sich im Spektrum mit drei Signalen (Singulett, Dublett, Triplett) zeigt. Weiteren Untersuchungen sollte die genaue Funktion des Vitamin C im Seminalplasma vorbehalten bleiben.

Nach der Signalzuordnung wurden durch Integration der Signalflächen relative und in Bezug auf den definierten Standard absolute Konzentrationen der Substanzen errechnet. Die höchsten

Konzentrationen zeigten durchweg Cholin und das Citrat, deren Signale auch im Spektrum vorherrschten. Sie liegen nach Integrierung der Signalflächen in einer Konzentration von 5.1 mM (Citrat) und 3.4 mM (Cholin) vor.

Mit dieser Arbeit konnte ein allgemeiner Überblick über die Variabilität des Spermas in Bezug auf die Konzentration und die Spermazusammensetzung gegeben werden. Dafür wurden die Proben von 15 Männern von Paaren mit unerfülltem Kinderwunsch analysiert. Nur für einwandfrei identifizierbare (und damit integrierbare) Substanzsignale konnten diese Konzentrationsuntersuchungen unternommen und mit anderen Literaturstellen verglichen werden. Es zeigten sich besonders große Differenzen bei der Citronensäure. Das in dieser Arbeit dargestellte Spermaspektrum sollte als Vorlage für spezifische, die Biochemie der Seminalflüssigkeit betreffende Untersuchungen dienen.

Des weiteren wurde das Seminalplasma bei 37 Grad inkubiert und die Zusammensetzung nach 18 Stunden mit dem Ausgangsspektrum nach 30 Minuten verglichen. Die entstandenen Veränderungen können durch die nach der Ejakulation einsetzenden Enzymaktivitäten (insbesondere der Peptidasen) erklärt werden.

Die in dieser Arbeit gewonnenen Ergebnisse wurden mit bereits publizierten NMR-spektroskopischen Untersuchungen des Spermas verglichen. Deutliche Differenzen zeigten sich bei der Zuordnung der Aminosäuren Serin und Glutamat / Glutamin sowie von GPC und Phosphocholin.

Der Vorteil der NMR-Spektroskopie liegt im Gegensatz zu anderen analytischen Methoden in der einfachen und schnellen Probenzubereitung und der fehlenden Beeinflussung biochemischer Vorgänge im Sperma. Die Ergebnisse liegen spätestens dreißig Minuten nach Probengewinnung vor. Dagegen kann über die klinische Relevanz der darstellbaren Substanzen noch keine eindeutige Aussage gemacht werden.

Diese Arbeit ist die Grundlage für weitere, spezifische Untersuchungen von Seminalplasma.