
ADIPOSITAS IST MIT VERMINDERTER SPERMIENQUALITÄT UND VERÄNDERTEN KONZENTRATIONEN AN ADIPOKINEN IN SERUM UND SEMINALPLASMA ASSOZIIERT

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

Dr. med.

an der Medizinischen Fakultät

der Universität Leipzig

eingereicht von

Dorothea Sophia Kratzsch, geb. 12.11.1985 in Leipzig

angefertigt an der Universität Leipzig, Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie,
Abteilung Andrologie

betreut von

Prof. Dr. med. U. Paasch, Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie, Abteilung
Andrologie, Universität Leipzig

Beschluss über die Verleihung des Doktorgrades vom: 18.12.2012

Bibliographische Beschreibung:

Kratzsch, Dorothea Sophia

Titel: Adipositas ist mit verminderter Spermienqualität und veränderten Konzentrationen an Adipokinen in Serum und Seminalplasma assoziiert

Universität Leipzig, Dissertation

Textteil: 91 Seiten, 16 Abbildungen, 46 Tabellen, 202 Literaturstellen.

Referat:

In den letzten Jahren wurde ein inverser Zusammenhang zwischen der Zunahme an Fettgewebe und der Funktionalität von Spermatozoen festgestellt, dessen molekulare Ursachen weitgehend unbekannt sind. Möglichweise spielen Sekretionsprodukte des Fettgewebes, sogenannte Adipokine, dabei eine entscheidende Rolle. Um diese Hypothese zu prüfen, wurden in einer Querschnittsstudie Sexualhormonkonzentrationen, SpermioGrammparameter und die Konzentration der Adipokine Adiponektin, Leptin, Resistin, Chemerin, Vaspin, Visfatin (Nampt) und Progranulin im Serum von normalgewichtigen, präadipösen und adipösen Probanden bestimmt. Die Adipokinkonzentrationen im Serum wurden mit den korrespondierenden Werten im Seminalplasma (SP) verglichen. Desweiteren wurden die gemessenen Adipokinspiegel beider Körperflüssigkeiten auf Zusammenhänge mit Sexualhormonkonzentrationen im Blut und den Parametern des klassischen SpermioGramms (WHO) untersucht. Dabei zeigte sich, dass die altersgemachten präadipösen/adipösen Probanden signifikant weniger progressiv motile und normomorphe Spermatozoen aufwiesen als die Gruppe der Normalgewichtigen ($p < 0,05$). In ihrem SP war die Konzentration von Adiponektin signifikant erniedrigt, während die von Chemerin im Vergleich zu normalgewichtigen Männern erhöht war ($p < 0,05$). Außerdem konnte nachgewiesen werden, dass die mittlere Konzentration von Adiponektin (400-fach), Leptin (5-fach), Resistin (1,5-fach) und Chemerin (1,5-fach) im Serum signifikant höher als die im SP war. Demgegenüber fand sich bei Vaspin (4-fach), Progranulin (50-fach) und Visfatin (100-fach) die Konzentration im SP signifikant erhöht. Bei Korrelationsanalysen unter Einschluss der Ergebnisse aus der Gesamtgruppe korrelierte von allen untersuchten Adipokinen nur die SP-Konzentration von Adiponektin direkt und signifikant mit der im Serum ($p < 0,01$). Zudem zeigten Adiponektin, Chemerin und Progranulin im SP direkte Assoziation mit den SpermioGrammparametern Spermienkonzentration, Spermienanzahl und progressive Motilität ($p < 0,05$). Wir konnten erstmals nachweisen, dass eine Vielzahl von Adipokinen im männlichen Reproduktionstrakt präsent sind und dort möglicherweise einen Einfluss auf die Spermienqualität in Abhängigkeit vom Körpergewicht haben könnten.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit fanden Eingang in folgende Abstracts und Publikationen:

Abstracts:

Kratzsch, D; Kratzsch, J; Thomas, S; Schaab, M; Grunewald, S and Paasch, U (2010): Comparison of adipokine concentration in serum and seminal plasma. 9tes Research Festival Leipzig. 17. Dezember 2010, Leipzig. Abstractband S. 135.

Kratzsch, D; Thomas, S; Schaab, M; Grunewald, S; Paasch, U and Kratzsch, J (2010): Comparison of adipokine concentration in serum and seminal plasma. 54. Symposion der Deutschen Gesellschaft für Endokrinologie. 30. März – 02. April 2011, Hamburg.

Thomas, S; Kratzsch, J; Kratzsch, D; Schaab, M; Grunewald, S and Paasch, U (2010): Adipokine concentrations in seminal plasma are correlated to semen quality in normal-weight and obese men. 9tes Research Festival Leipzig. 17. Dezember 2010, Leipzig. Abstractband S. 134.

Thomas, S; Kratzsch, D; Schaab, M; Grunewald, S; Kratzsch, J and Paasch, U (2010): Adipokine concentrations in seminal plasma are correlated to semen quality in normal-weight and obese men. 54. Symposion der Deutschen Gesellschaft für Endokrinologie. 30. März – 02. April 2011, Hamburg.

Publikationen:

Thomas, S; Kratzsch, D; Schaab, M; Scholz, M; Grunewald, S; Paasch, U and Kratzsch, J (2011): Seminal plasma adipokine levels are correlated with functional characteristics of spermatozoa. J Clin Endocrino Metab, eingereicht.

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	- 1 -
2	THEORETISCHE EINFÜHRUNG	- 3 -
2.1	Adipositas	- 3 -
2.2	Adipositasbedingte Veränderungen der Sexualhormone beim Mann	- 4 -
2.3	Adipositasbedingte Veränderungen im Spermogramm	- 5 -
2.4	Fettgewebe und Fettgewebshormone	- 6 -
2.4.1	Adiponektin	- 7 -
2.4.2	Leptin	- 10 -
2.4.3	Resistin	- 11 -
2.4.4	Chemerin	- 13 -
2.4.5	Vaspin	- 13 -
2.4.6	Visfatin	- 14 -
2.4.7	Progranulin	- 15 -
2.5	Die Blut-Hoden-Schranke	- 17 -
2.6	Fragestellung	- 17 -
3	MATERIAL UND METHODEN	- 19 -
3.1	Material und Geräte	- 19 -
3.2	Enzyme-linked Immunosorbent Assay	- 19 -
3.2.1	Reagenzien und Ablauf der Tests	- 20 -
3.2.2	Methodik	- 27 -
3.3	Radioimmunoassay	- 28 -
3.3.1	Reagenzien	- 28 -
3.3.2	Methodik	- 29 -
3.4	Validierung der Adipokinbestimmung im Seminalplasma	- 30 -
3.5	Probanden	- 30 -
3.6	Ejakulatanalyse	- 32 -
3.6.1	Untersuchungsbedingungen	- 32 -
3.6.2	Klassisches Spermogramm	- 33 -
3.6.3	Gewinnung und Aufbewahrung des Seminalplasmas	- 33 -
3.7	Analyse der Blutproben	- 33 -
3.8	Statistik	- 34 -
4	ERGEBNISSE	- 35 -

4.1	Adipositas und männliche Fertilität	- 35 -
4.1.1	Zusammenhang zwischen BMI und Sexualhormonkonzentrationen sowie Spermogrammparametern	- 35 -
4.2	Adipositas und Adipokine	- 39 -
4.2.1	Validierung der Adipokinkonzentration im SP	- 39 -
4.2.2	Zusammenhang zwischen BMI und Adipokinkonzentration in Serum und SP	- 47 -
4.2.3	Vergleich der Adipokinkonzentrationen in Serum und SP	- 51 -
4.3	Adipokine und männliche Fertilität	- 56 -
4.3.1	Zusammenhang zwischen Adipokinkonzentrationen, Sexualhormonkonzentrationen und Spermogrammparametern	- 56 -
5	DISKUSSION	- 58 -
6	ZUSAMMENFASSUNG	- 72 -
7	LITERATUR	- 76 -
8	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	- 89 -
9	TABELLENVERZEICHNIS	- 90 -

Abkürzungsverzeichnis

Verwendete Abkürzungen

A	Gruppenbezeichnung für adipöse Probanden
AdipoR	Adiponektin Rezeptor
AK	Antikörperkonjugat
AMPK	Adenosinmonophosphat-aktivierte Proteinkinase
Aqua dest.	Aqua destillatum
BMI	<i>Body mass index</i> (Körpermasseindex)
BU	Bauchumfang
CRP	C-reaktives Protein
D	Detektor
<i>db</i>-Gen	Diabetes Gen
DFI	DNA-Fragmentationsindex
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EK	Enzymkonjugat
ELISA	<i>Enzyme-linked Immunosorbent Assay</i>
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
GH	<i>Growth hormone</i> (Wachstumshormon)
GIT	Gastrointestinaltrakt
GLUT 4	Glukosetransporter 4
Gp	Glykoprotein
HbA1c	Hämoglobin A1c
hCG	Humanes Choriogonadotropin
IL	Interleukin
JAK STAT-Signalweg	<i>Janus kinase signal transducer and activator of transcription</i>
KS	Kontrollserum
LH	Luteinisierendes Hormon
m-RNA	Messenger-Ribonukleinsäure
MTP	Mikrotiterplatte
MW	Mittelwert
N	Normalgewichtiger Proband
n	Anzahl der Probanden
Nampt	Nicotinamid Phosphoribosyl-Transferase

NPY	Neuropeptid Y
ob-Gen	<i>Obesity Gen</i>
OB-R	Leptin-Rezeptor
OLETF-Ratten	<i>Otsuka-Long-Evans-Tokushima-Fatty Rat</i>
OD	Optische Dichte
P	Gruppenbezeichnung für präadipöse Probanden
P/A	Gruppenbezeichnung für präadipöse und adipöse Probanden
POD	Meerrettich-Peroxidase
POMC	Proopiomelanocortin
PP	Probenpuffer
PPAR-α	<i>Peroxisome proliferator-activated receptor α</i>
RIA	Radioimmunoassay
RT	Raumtemperatur
RT-PCR	Real time Polymerasekettenreaktion
S	Substrat
SCSA	<i>Sperm Chromatin Structure Assay</i>
SD	Standardabweichung
SHGB	Steroidhormon-bindendes Globulin
SL	Stopplösung
sOBR	<i>Soluble leptin receptor</i> (Löslicher Leptinrezeptor)
SP	Seminalplasma
T	Testosteron
TNF-α	Tumornekrosefaktor-α
TZD	Thiazolidindione
VF	Verdünnungsfaktor
VP	Verdünnungspuffer
WP	Waschpuffer

1 Einleitung

Infertilität liegt per Definition vor, wenn bei einem Paar innerhalb eines Jahres, trotz regelmäßigen ungeschützten Geschlechtsverkehr keine Schwangerschaft eintritt (Nieschlag et al. 2009). Ungewollte Kinderlosigkeit ist ein weltweites Problem, besonders betroffen sind jedoch die Industrieländer. Bei einer umfassende Metaanalyse zum Thema Infertilität mit der Auswertung von 25 Bevölkerungsstudien zeigte sich eine Prävalenz, die zwischen 7,4% in den USA und 16,7% in Russland lag (Boivin et al. 2007). In Mitteleuropa geht man davon aus, dass 10-15% aller Paare ungewollt kinderlos leben (Keck et al. 2002).

Immer wieder wird postuliert, dass es in den letzten Jahrzehnten zu einer deutlichen Zunahme der Infertilität gekommen sei. Daraus resultiert, dass auch die Nachfrage an medizinischer Betreuung von Paaren mit unerfülltem Kinderwunsch stetig ansteigt.

Die Ursachen von Infertilität sind vielfältig. Bei 25-30% aller Fälle spielen männliche Faktoren allein die entscheidende Rolle. In weiteren 30 % stellen sie die Ursache in Kombination mit weiblichen Faktoren dar (Hammoud et al. 2006). Noch wenige Jahre zuvor ging man von wesentlich geringerer männlicher Beteiligung aus (Thonneau et al. 1991, de Kretser und Baker 1999). Dabei wird das Augenmerk vermehrt auf abnehmende Ejakulatqualität gerichtet. Carlsen et al. (1992) zogen in ihrer Metaanalyse von 61 Studien eine erschreckende Bilanz. Die Spermienkonzentration sank von $113 \times 10^6/\text{mL}$ im Jahr 1940 auf $66 \times 10^6/\text{mL}$ 1990 ab. Dies bedeutete eine Abnahme von $0,94 \times 10^6/\text{mL}$ pro Jahr (Carlsen et al. 1992). Ähnliche Ergebnisse lieferten zahlreiche andere Arbeiten (Auger et al. 1995, Irvine 1996, Swan et al. 1997). Aber auch Studien, die eine Abnahme der Ejakulatqualität widerlegen, wurden publiziert (Paulsen et al. 1996, Andolz et al. 1999). Letztere konnten in ihrer Studienpopulation innerhalb eines Zeitraumes von 21 Jahren keinerlei Veränderungen der Samenqualität feststellen. Eine Beeinträchtigung der Ejakulatqualität und damit eine verminderte Zeugungsfähigkeit kann durch Pathologien wie Kryptorchismus, Hodentorsion, Trauma, Varikozele, Infektion der Samenwege, Spermaantikörper (antisperm antibodies ASA), sowie hypogonadotropher Hypogonadismus, gonadale Dysgenese und Obstruktion der Reproduktionswege bedingt sein (Oehninger 2000).

Derzeit wird der Adipositas als einem weiteren potentiellen Risikofaktor für Infertilität immer mehr Aufmerksamkeit geschenkt. Übergewicht und Adipositas sind in der Bevölkerung epidemisch verbreitet. Im Jahr 2010 sind laut WHO in Europa 150 Millionen Erwachsene und 15 Millionen Kinder betroffen (World Health Organization 2007). Bereits bekannt ist, dass Übergewicht bei Frauen reproduktive Konsequenzen mit sich bringen kann. So ist zunehmender BMI assoziiert mit erhöhten Risiko eines polyzystischen Ovarialsyndroms, Menstruationsunregelmäßigkeiten, Infertilität, Abortneigung, Versagen von Infertilitätstherapie und multiplen Komplikationen bei der Schwangerschaft, einschließlich Gestationsdiabetes, Präeklampsie, Makrosomie des Fetus und Kaiserschnitt (ESHRE Capri

Workshop Group. 2006, Villamor und Cnattingius 2006, Chavarro et al. 2007, Metwally et al. 2008). Die Auswirkungen von Übergewicht und Adipositas auf die männliche Fertilität sind weniger erschlossen. Übergewichtige Männer haben ein erhöhtes Risiko erektiler Dysfunktion (Esposito et al. 2004, Bacon et al. 2006). Außerdem wurde bei Männern mit Übergewicht oder Adipositas ein verändertes Hormonprofil, veränderte Spermio-graphmparameter und eine gestörte Integrität der Spermien-DNA beschrieben. Großes wissenschaftliches Interesse wird derzeit den Adipokinen geschenkt. Diese Sekretionsprodukte des Fettgewebes sind nicht nur in die Steuerung physiologischer und pathologischer Prozesse im Fettgewebe involviert, sondern entfalten ihre Wirkung auch an anderen Organen. Ob sie das kausale Bindeglied zwischen Adipositas und männlicher Infertilität sein können, soll in dieser Studie geklärt werden.

2 Theoretische Einführung

2.1 Adipositas

Adipositas ist definiert als eine über das Normalmaß hinausgehende Vermehrung des Körperfetts. Berechnungsgrundlage für die Gewichtsklassifikation ist der Körpermasseindex (BMI). Der BMI ist der Quotient aus Gewicht und Körpergröße zum Quadrat (kg/m^2). Dabei gilt ein $\text{BMI} \geq 25 \text{ kg/m}^2$, nach WHO-Definition, als übergewichtig. Adipositas liegt ab einem BMI von 30 kg/m^2 vor. Bei BMI-Werten $\geq 40 \text{ kg/m}^2$ spricht man von extremer Adipositas (World Health Organization 2000). Da der errechnete BMI nicht zwischen Muskel- und Fettmasse unterscheiden kann, ist seine Aussagekraft beschränkt. Andere Indizes, wie Taillenumfang und „Waist-to-Hip-Ratio“ berücksichtigen verschiedene Aspekte der Körperzusammensetzung und Fettverteilung und sind Indikatoren für abdominelle Adipositas (Seidell et al. 2001). Bei einem Taillenumfang $> 94 \text{ cm}$ bei Männern und $> 80 \text{ cm}$ bei Frauen besteht ein deutlich erhöhtes Risiko für mit Adipositas assoziierte Stoffwechselerkrankungen (Alberti et al. 2006).

Übergewicht und Adipositas sind in der Bevölkerung epidemisch verbreitet. Laut WHO sind 30-80% der Erwachsenen in Europa von Übergewicht betroffen (World Health Organization 2007). Im Jahr 2009 wurden 14,7% der Bevölkerung Deutschlands ab 18 Jahren als adipös, 51,4% als übergewichtig eingestuft. Der Anteil der Menschen mit Adipositas steigt mit zunehmenden Lebensalter und geht erst bei den älteren Ruheständlern deutlich zurück. (Statistisches Bundesamt Wiesbaden 2010).

Die Adipositas wird heute als eine chronische Gesundheitsstörung verstanden und beruht meist auf einer polygenetischen Veranlagung. Ätiologisch grenzt man die primäre Adipositas (95%) von der sekundären Adipositas (5%) ab. Hauptursachen für die zunehmende Verbreitung von primärer Adipositas sind in Überernährung, ungesunder Lebensweise und körperlicher Inaktivität zu suchen (Statistisches Bundesamt Wiesbaden 2010).

Adipositas geht mit einer Vielzahl an Begleit- und Folgemorbidität einher und erfordert ein langfristiges Behandlungs- und Betreuungskonzept. So ist Fettleibigkeit ein wichtiger Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen, Typ 2 Diabetes mellitus, Osteoarthritis, Gallenblasenerkrankungen, Schlaf-Apnoe-Syndrom, pulmonale und thrombembolische Komplikationen und Störungen des Kohlenhydratstoffwechsels (Roe und Eickwort 1976, Visscher und Seidell 2001). Des weiteren erhöht Adipositas das Risiko für das Auftreten verschiedener Karzinome wie das des ösophagealen Adenokarzinoms, Pankreas- und Colorektalkarzinoms sowie des Mamma-, Endometriums- und Nierenzellkarzinoms (Osorio-Costa et al. 2009). Adipositas, Insulinresistenz, arterielle Hypertonie, Dyslipidämie und endotheliale Dysfunktion treten häufig miteinander vergesellschaftet auf (Kahn et al. 2006).

Das sogenannte „Metabolische Syndrom“ ist ein Hauptrisikofaktor der kardiovaskulären Mortalität in den industrialisierten Ländern.

2.2 Adipositasbedingte Veränderungen der Sexualhormone beim Mann

Es ist allgemein bekannt, dass Übergewicht und Adipositas mit einem veränderten Hormonprofil einhergehen. Dieses ist beim Mann gekennzeichnet durch verminderte Spiegel an Androgenen und SHBG, erhöhte Östrogene und eine veränderte Sekretion an Gonadotropinen. In jüngster Zeit wurde außerdem der Einfluss von erhöhtem Körpergewicht auf die Spiegel an Inhibin B beschrieben. Bisher ist noch nicht ausreichend geklärt, auf welchem Weg und in welchem Ausmaß diese hormonellen Veränderungen das männliche Reproduktionspotential beeinflussen. Einen Überblick über die hormonellen Veränderungen bei männlicher Adipositas liefert Abbildung 1.

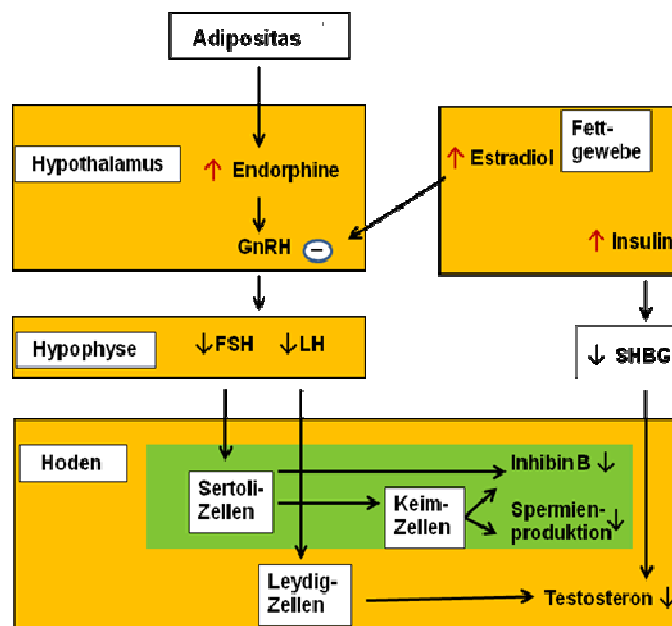


Abbildung 1: Verändertes Hormonprofil assoziiert mit männlicher Adipositas

(modifiziert nach Hammoud et al. 2008a)

Adipöse Männer zeigen typischerweise das Hormonprofil eines hyperöstrogenen hypogonadotropen Hypogonadismus (Hammoud et al. 2006). Ein erhöhter Anteil an Fettgewebe führt dort über den Anstieg des Enzyms Aromatase zu einer verstärkten Steroidkonversion von C19 Androgenen, wie T und Androstendion, in Östrogene (de Boer et al. 2005). Der daraus resultierende Hyperöstrogenismus bei Adipösen verstärkt den negativen Feedbackmechanismus auf die Gonadotropine FSH und LH (Strain et al. 1982).

Verminderte testikuläre Funktion, verminderte T-Produktion und damit erniedrigte Spiegel an intratestikulärem und zirkulierendem T können die Folge des relativen Hypogonadotropismus sein (Hammoud et al. 2008a). Andere Studien negieren hingegen einen indirekten Zusammenhang zwischen BMI und Gonadotropinen (Jensen et al. 2004, Aggerholm et al. 2007, Pauli et al. 2008).

Der Abfall an SHBG ist durch die verminderte Produktion in der Leber infolge von Hyperinsulinämie und mit Adipositas assoziierter Insulinresistenz (Plymate et al. 1988) begründet. Verminderte Spiegel an SHBG erhöhen die Bioverfügbarkeit der Androgene, die gegenüber den Östrogenen bevorzugt von SHBG gebunden werden (Kley et al. 1981). Trotz dessen sind die Spiegel an intratestikulärem T aufgrund der verkürzten Halbwertszeit des freien T und des Abfalls der totalen T-Produktion erniedrigt (Jensen et al. 2004). Ursachen für die verminderten Spiegel an totalen T sind neben verminderter SHBG-Bindungskapazität und Suppression der Hypothalamisch-Hypophysären-Achse durch Östrogen, die direkte Wirkung von Leptin und anderen Adipokinen auf Leydig-Zellen (Isidori et al. 1999, Caprio et al. 2003, Caminos et al. 2008).

Inhibin B ist ein Marker der Sertolizellfunktion und Spermatogeneseaktivität (Winters et al. 2006). Eine inverse Korrelation zwischen BMI und Inhibin B wurde in mehreren Studien beschrieben (Globerman et al. 2005, Winters et al. 2006). Die Anzahl an Keimzellen im Erwachsenenalter ist abhängig von der Anzahl an funktionstüchtigen Sertolizellen (Sharpe et al. 2003). Die Zunahme an Sertolizellen in der Pubertät ist begleitet von einem Anstieg des zirkulierenden Inhibin B (Winters und Plant 1999, Andersson und Skakkebaek 2001). Dieser Anstieg ist wahrscheinlich auf den zeitgleichen Anstieg von GnRH, FSH und LH zurückzuführen (Winters et al. 2006).

2.3 Adipositasbedingte Veränderungen im Spermogramm

Inwieweit Übergewicht und Adipositas mit veränderter Samenqualität und -Quantität einhergehen, ist umstritten. Um die Fertilität von Männern mit unterschiedlichem BMI einschätzen zu können, wird deren Ejakulat im Spermogramm auf Parameter wie Anzahl, Konzentration, Motilität und Morphologie der Spermien untersucht. Die Messung des Ejakulatvolumens und der DNA-Fragmentation geben ebenfalls Aufschluss über Qualitätsveränderungen des Ejakulats.

Jensen et al. (2004) beschrieben bei der Untersuchung von 1558 dänischen Rekruten eine Verminderung von Spermienkonzentration und totaler Spermienanzahl (Konzentration x Volumen) bei Übergewichtigen und Adipösen, im Vergleich zu Männern mit Normalgewicht. Die Prävalenz von Oligozoospermie (Spermienkonzentration < 20 Millionen Spermien / mL) zeigte sich bei übergewichtigen und adipösen Männern als erhöht (Jensen et al. 2004). In einer Studie unserer Klinik konnte nur in der Gruppe der 20-30-Jährigen ein negativer

Zusammenhang zwischen BMI und totaler Spermienanzahl nachgewiesen werden (Paasch et al. 2010). Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch zahlreiche andere Studien (Kolozsar et al. 2005, Magnusdottir et al. 2005, Fejes et al. 2006, Hammoud et al. 2008b).

Die Datenlage über das Verhältnis zwischen männlicher Adipositas und Motilität sowie Morphologie ihrer Spermien ist ebenfalls kontrovers. Während die Studien von Jensen et al. (2004) und Fejes et al. (2006) keinerlei Zusammenhang beider aufzeigen konnten, beschrieben Kort et al. (2006) eine signifikante negative Assoziation zwischen BMI und totaler Anzahl normal-motiler Spermien. Hammoud et al (2008 B) stellten in einer Untersuchung infertiler Paare fest, dass sich die Prävalenz von Spermien mit niedriger progressiver Motilität ($< 10 \times 10^6$ progressiv motiler Spermien) und abnormer Morphologie mit steigendem BMI erhöhte.

Der Einfluss von Übergewicht und Adipositas auf das Ejakulatvolumen wurde schon mehrfach analysiert. Eine neuere Arbeit von Chavarro et al. (2010) zeigte, dass das Ejakulatvolumen als einziger Parameter signifikante Unterschiede zwischen adipösen und normalgewichtigen Männern aufwies. So sank es kontinuierlich mit steigenden BMI-Stadium (Chavarro et al. 2010). Dieser Zusammenhang konnte in früheren Studien nicht belegt werden (Jensen et al. 2004, Fejes et al. 2006, Pauli et al. 2008).

In einem systematischen Review von 2010 mit Metaanalyse von 31 Studien konnte keinerlei Zusammenhang zwischen erhöhtem BMI und SpermioGrammparametern bestätigt werden (MacDonald et al. 2010). Auch Pauli et al. (2008) und Aggerholm et al. (2007) konnten keine Wechselwirkung zwischen beidem feststellen. Zusammenfassend ist der Einfluss von Adipositas auf die SpermioGrammparameter umstritten und erfordert weitere Evidenz.

Auch eine erhöhte DNA-Fragmentation kann beim männlichen Geschlecht mit Infertilität einhergehen. Kort et al. (2006) nutzen zum Nachweis von Chromatin-Integrität im Spermium den SCSA Assay. Mit Hilfe des SCSA konnte der DNA-Fragmentations-Index (DFI) berechnet werden. Dabei zeigte sich eine positive Korrelation zwischen DFI und BMI (Kort et al. 2006). Dies bedeutet, dass Übergewichtige und Adipöse im Gegensatz zu normalgewichtigen Männern, einen signifikant höheren Anteil beschädigter DNA aufwiesen (Kort et al. 2006). Chavarro et al. (2010) bestätigten diese Ergebnisse, nutzen jedoch den Comet Assay.

2.4 Fettgewebe und Fettgewebshormone

Die frühere Betrachtung des Fettgewebes als weitgehend passives Energiespeicherorgan ist mittlerweile überholt. Heute ist bekannt, dass das Fettgewebe eine Vielzahl bioaktiver Peptide produziert und sezerniert (Kloting et al. 2007). Diese werden in ihrer Gesamtheit als Adipokine bezeichnet. Durch seine sekretorische Aktivität kann das Fettgewebe über autokrine, parakrine und endokrine Mechanismen zentrale Steuerfunktionen in der

Regulation von Appetit sowie Energie-, Glukose- und Lipidstoffwechsel ausüben (Havel 2004). Veränderungen der Adipokinkonzentration wurden häufig bei metabolischen und vaskulären Komplikationen der Adipositas, wie Insulinresistenz (Abbildung 2), nachgewiesen (Rabe et al. 2008). Zu den bisher bekanntesten Sekretionsprodukten des Fettgewebes gehören Adiponektin, Leptin, Resistin, Chemerin, Vaspin, Visfatin und Progranulin. Auf diese wird in den folgenden Seiten eingegangen. Retinol-Bindungsprotein 4 (RBP4), Tumornekrosefaktor α (TNF- α), Interleukin 6 (IL-6), Adipocyte fatty acid binding protein (AFABP) und Fibroblast growth factor 21 (FGF21) sind weitere Adipokine, die in den letzten Jahren in verschiedenen Reviews beschrieben wurden (Faßhauer M. und Blüher M. 2010, Galic et al. 2010).

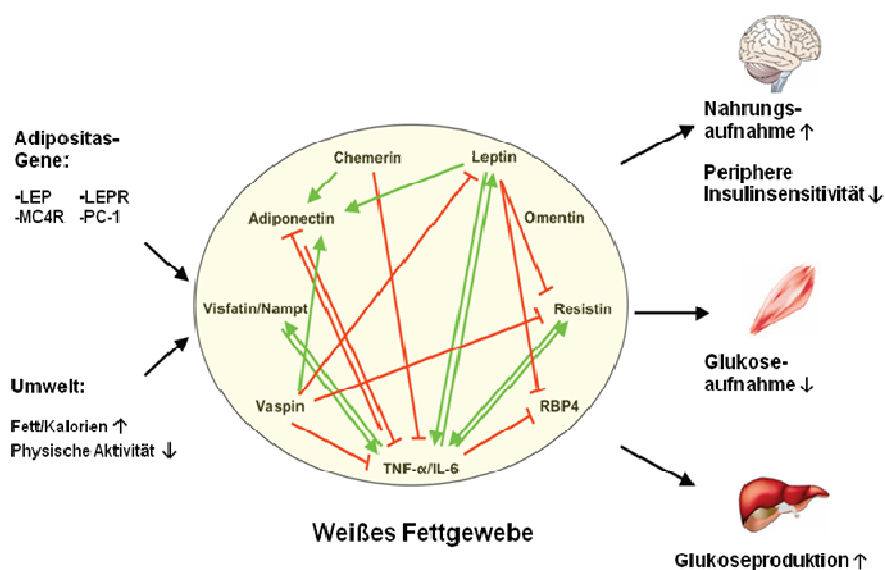


Abbildung 2: Interaktionen und Wirkungen der Adipokine

Die Zunahme an viszeralen Fettgewebe resultiert in veränderten Adipokinkonzentrationen, welche eine ZNS-vermittelte Insulinresistenz in Leber und Skelettmuskel hervorrufen (modifiziert nach Rabe et al. 2008).

2.4.1 Adiponektin

Adiponektin, welches fast ausschließlichs von Fettzellen exprimiert wird, kommt in drei verschiedenen Isoformen vor (Rosen und Spiegelman 2006). In der einfachsten Form bildet Adiponektin ein aus drei 30 kDa Untereinheiten bestehendes Homotrimer aus. Durch Hexamerbildung der Trimere entsteht die low molecular weight (LMW)-Form des Adiponektins mit einer Größe von 180 kDa. Das sogenannte high molecular weight (HMW)-Adiponektin mit einer Molekülgröße von >400 kDa wird von hochmolekularen Formen gebildet. Die Struktur des Adiponektins in trimärer, hexamerer und oktadekamerer Oligomerisation ist in Abbildung 3 sichtbar.

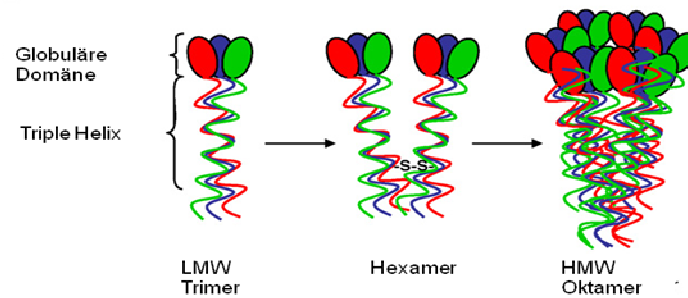


Abbildung 3: Darstellung der Oligomerisationsmöglichkeiten des Adiponektinmoleküls

(modifiziert nach Galic et al. 2010)

Alle Adiponektinformen gemeinsam machen ungefähr einen Anteil von 0,01% der Serumproteine aus (Arita et al. 1999).

Zwei Adiponektinrezeptoren (AdipoR) wurden bisher beschrieben (Yamauchi et al. 2003a). Dabei handelt es sich um 7-Transmembranrezeptoren, die strukturelle Ähnlichkeit mit G-Protein-gekoppelten Rezeptoren aufweisen. Während AdipoR1 im Skelettmuskel exprimiert wird und eine Bindung mit globuläres Adiponektin eingeht, befindet sich AdipoR2 vorwiegend in der Leber und bindet sowohl globuläres als auch „full length“ Adiponektin (Yamauchi et al. 2003a, Kadowaki und Yamauchi 2005). Seine Wirkung entfaltet das Adipokin über die Aktivierung der AMPK-Proteinkinase, welche in der Phosphorylierung verschiedener intrazellulärer Proteine, einschließlich Acetyl-Coenzym A-Carboxylase und PPAR- α resultiert (Fruebis et al. 2001, Yamauchi et al. 2003b).

Adiponektin besitzt zahlreiche endothelprotektive Fähigkeiten und beeinflusst Insulinsensitivität, Glukosestoffwechsel und Lipidmetabolismus (Kadowaki und Yamauchi 2005). In verschiedenen Zielgeweben verbessert Adiponektin die Insulinsensitivität. Durch AMPK Aktivierung mittels Adiponektin wird der Fettsäuretransport in Myozyten induziert und die Expression von Enzymen der Glukoneogenese vermindert (Yamauchi et al. 2001, Yamauchi et al. 2002). Über die Aktivierung von PPAR- α und - γ stimuliert Adiponektin die Fettsäureoxidation und vermindert den Triglycerid-Gehalt in Muskel und Leber (Kadowaki und Yamauchi 2005). Scherer et al. (2006) vermuteten, dass die Umverteilung von Fettdepots in Geweben wie Muskulatur und Leber zum Fettgewebe einen entscheidenden Wirkmechanismus des Adiponektins darstellt. Weniger Fett in Muskulatur und Leber resultieren in einer verbesserten Insulinsensitivität (Scherer 2006). Zudem konnte gezeigt werden, dass Adiponektin in Ratten über die Translokation von GLUT4 in die Plasmamembran, direkten Einfluss auf die Glukoseaufnahme in Skelettmuskel und Fettgewebe ausübte (Ceddia et al. 2005). Adiponektin-defiziente Mäuse wiesen eine verminderte Insulinempfindlichkeit auf (Maeda et al. 2002). Passend zu diesem Befund waren Mäuse mit einer Ablation von AdipoR1 oder AdipoR2 insulinresistent (Yamauchi et al. 2007).

Auch beim Menschen weisen Studien auf einen Zusammenhang zwischen Adiponektin, Adipositas und verminderter Insulinsensitivität hin. So gingen in verschiedenen Arbeiten Insulinresistenz und Adipositas mit verminderten Spiegeln an Adiponektin einher (Hotta et al. 2000, Weyer et al. 2001). Der BMI korrelierte negativ mit der Adiponektinkonzentration (Arita et al. 1999, Hotta et al. 2000). Genauer betrachtet war die Korrelation des Adiponektins zum Gehalt an viszeralen Fettgewebe ausgeprägter, als die zum Subkutanfett (Matsuzawa 2006). Nach Gewichtsreduktion kam es sowohl bei Diabetikern, als auch bei Nichtdiabetikern zu einem Wiederanstieg des Adiponektins (Hotta et al. 2000). Adiponektin ist ein wichtiger Risikomarker für die Entstehung eines Metabolischen Syndroms (Matsuzawa 2006).

Neben insulinsensitivierenden Effekten werden Adiponektin auch gefäßprotektive Eigenschaften zugesprochen. Das Adipokin wirkt antiarteriosklerotisch durch seine antiinflammatorischen Eigenschaften, dessen Effekte auf die Proliferation glatter Muskelzellen sowie durch die Unterdrückung der Makrophagen-Umwandlung zu Schaumzellen (Kubota et al. 2002). Außerdem stimuliert Adiponektin über AMPK die NO-Synthese in Endothelzellen (Chen et al. 2003). Die Abwesenheit von Adiponektin führt zu einer erhöhten neointimalen Proliferation, als Antwort auf entstehende Gefäßschäden (Kubota et al. 2002). In Übereinstimmung mit diesen Befunden zeigten sich bei einer Untersuchung von Diabetikern mit und ohne Koronarer Herzkrankheit (KHK) bei Patienten mit KHK niedrigere Adiponektinkonzentrationen als bei den Probanden ohne KHK (Hotta et al. 2000).

Studien über den Einfluss von Adiponektin auf die Reproduktion beschränkten sich bis vor wenigen Jahren auf weibliche Reproduktionsstörungen. So wurde eine Verminderung der Adiponektinspiegel bei Frauen mit Polyzystischen Ovarialsyndrom aufgezeigt (Orio, Jr. et al. 2003, Aroda et al. 2008). Weitere Evidenz für eine physiologische Verbindung zwischen Adiponektin und der Reproduktionsfunktion wurde durch die Beobachtung belegt, dass Adiponektinkonzentrationen bei Frauen höher sind als bei Männern (Combs et al. 2003). Der Nachweis der Genexpression von Adiponektin in Ovar und Eileiter erfolgte im Jahr 2007 (Chabrolle et al. 2007, Archanco et al. 2007).

Die Expression und hormonelle Regulation von Adiponektin im Rattenhoden, sowie dessen funktionale Bedeutung wurde erstmals durch Caminos et al. (2008) untersucht. Im selben Jahr konnten Ocón-Grove et al. (2008) die Existenz von Adiponektin und dessen Rezeptoren im Hoden von Hähnen nachweisen. Sexuelle Reifung ging mit einer Hochregulation der Rezeptorgene einher (Ocon-Grove et al. 2008). Die Regulation der Rezeptoren durch Gonadotropine wurde vermutet (Caminos et al. 2008). Eindeutiger konnte die Modulation der beiden Rezeptoren durch metabolische Hormone und Faktoren, wie Glucokortikoide, Thyroxin und PPAR-gamma gezeigt werden.

2.4.2 Leptin

Leptin ist ein 16 kDa großes Peptidhormon, welches fast ausschließlich von Adipozyten sezerniert wird (Zhang et al. 1994). Es ist das Produkt des *ob*-Gens, dessen Mutation in einer Störung der Nahrungsaufnahme und des Energiestoffwechsels resultiert (Zhang et al. 1994).

Der Leptin-Rezeptor (OB-R) gehört zur Klasse 1 der Zytokinrezeptorfamilie. Sechs unterschiedlich gespaltene Isoformen des OB-R, welche sich durch die Länge ihrer zytoplasmatischen Domäne unterscheiden, wurden bisher identifiziert: eine lange Isoform (OB-Rb), 4 kurze Isoformen (OB-Ra, OB-Rc, OB-Rd, OB-Rf) und eine lösliche Isoform (OB-Re) (Tartaglia et al. 1995, Wang et al. 1996). Jedoch nur die OB-Rb Isoform ist aufgrund ihrer vollständigen intrazellulären Domäne dazu in der Lage, den JAK-STAT-Signalweg wirkungsvoll zu aktivieren (Wang et al. 1996, Houseknecht et al. 1998). Leptin bindet im humanen Serum an Proteine, unter anderem an den löslichen Leptinrezeptor (sOBR). Dabei handelt es sich um ein Bindeprotein von 90 kDa, welches Leptin über die Blut-Hirnschranke in den Hypothalamus transportiert. Während bei normalgewichtigen Individuen der Großteil des Leptins in gebundener Form vorliegt, zirkuliert Leptin bei adipöse Menschen überwiegend in freier Form (Sinha et al. 1996b).

Zirkulierende Spiegel an Leptin, welches vorwiegend im weißen Fettgewebe produziert wird, korrelieren direkt mit der Körperfettmasse und der Adipozytengröße (Houseknecht et al. 1998). Da die Fettzellen bei Adipositas um das Zwei- bis Vierfache vergrößert sind, kann die Leptin-Sekretion bei adipösen Personen im Vergleich zu Normalgewichtigen bis auf das Siebenfache ansteigen (Fried et al. 2000). Während Fettleibigkeit mit erhöhten Leptinwerten einher geht, sinken die Leptinspiegel bei Hunger (Houseknecht et al. 1998). Leptinwerte unterliegen einer moderaten zirkadianen Variation, mit einem Maximum zwischen 23.00 und 1.00 Uhr (Saladin et al. 1995, Sinha et al. 1996a). Zudem besteht ein starker Zusammenhang zwischen Leptinsekretion und Zeit der Nahrungsaufnahme. So resultiert eine Verzögerung der Nahrungsaufnahme um 6 Stunden in einer gleichartigen Phasenverschiebung des Plasmaleptinprofils (Saladin et al. 1995). Darüber hinaus kann die Expression von Leptin direkt durch Insulin und Glukokortikoide hochreguliert werden (Saladin et al. 1995). Frauen besitzen bei gleicher Fettmasse höhere Leptinspiegel als Männer (Rosenbaum et al. 1996).

Im Stoffwechsel unterdrückt Leptin über die Hemmung anaboler und die Aktivierung kataboler neuronaler Schaltkreise den Appetit und erhöht den Energieverbrauch. Diese Effekte beinhalten die Stimulation der Synthese anorexigener Peptide wie POMC, Cocain und „cocaine and amphetamine-regulated transcript“ (CART) sowie die Verminderung der Bildung orexigener Faktoren wie NPY und „agouti regulated protein“ (AgRP) im Nucleus arcuatus des Hypothalamus (Schwartz et al. 2000). Folgerichtig entwickeln Leptin-defiziente

ob/ob-Mäuse und Leptinrezeptor-defiziente *db/db*-Mäuse eine schwere Hyperphagie und exzessive Adipositas, welche mit Insulinresistenz und Typ 2 Diabetes mellitus assoziiert sind (Ahima und Flier 2000). Durch Leptingaben konnten diese Veränderungen bei *ob/ob*-Mäusen korrigiert werden (Pelleymounter et al. 1995). Auch Leptin-defiziente Menschen zeigen einen ähnlichen Phänotyp. So wurden zwei massiv adipöse Kinder mit kongenitalen Leptinmangel erfolgreich mit dem Adipokin behandelt (Farooqi et al. 1999). Dem gegenüber sind die Konzentrationen an Leptin bei normaler Adipositas erhöht und eine weitere Zufuhr des Proteins verbessert weder Appetit noch Körpergewicht (Savage und O'Rahilly 2002). Als Mechanismus ist eine Leptinresistenz bei Adipositas wahrscheinlich, wobei als Ursachen Transportstörungen von Leptin über die Blut-Hirnschranke und Störungen der (hypothalamischen) Signaltransduktion diskutiert werden (El-Haschimi et al. 2000, Banks 2003).

Neben seiner Wirkungen auf den Stoffwechsel ist Leptin für das Reproduktionssystem von entscheidender Bedeutung. So sind männliche *ob/ob*-Mäuse, die aufgrund einer *ob*-Genmutation einen Leptin-Mangel aufweisen, unfruchtbar (Cunningham et al. 1999). Dieser Defekt konnte durch Leptinapplikation korrigiert werden (Cunningham et al. 1999). Es wird angenommen, dass Leptin die gonadale Funktion direkt über das zentrale neuroendokrine System und indirekt über periphere Membranrezeptoren reguliert (Aquila et al. 2005). Leptinrezeptoren wurden bereits in verschiedenen peripheren endokrinen Geweben wie Ovar (Karlsson et al. 1997), Nebennieren (Bornstein et al. 1997), Pankreas (Kieffer et al. 1996) und Hoden (Zamorano et al. 1997) beschrieben. Die Expression des OB-Rb, der sich hauptsächlich im Hypothalamus befindet, wurde speziesspezifisch auch im Hoden nachgewiesen. So wurde die Expression von Ob-Rb m-RNA in Sertoli-Zellen von adulten Ratten aufgezeigt (Tena-Sempere et al. 2001), während die Leptinrezeptor-Immunreaktivität auf Leydig-Zellen von Ratten und Keimzellen von Mäusen detektiert wurde (El-Hefnawy et al. 2000, Caprio et al. 2003). Zudem wurden Leptinrezeptoren bereits im humanen testikulären Gewebe nachgewiesen (Cioffi et al. 1996).

2.4.3 Resistin

Resistin, ein Peptidhormon von 12 kDa, wurde erstmals 2001 als TZD-downreguliertes Gen in Maus-Adipozyten beschrieben (Steppan et al. 2001). Es gehört zur Genfamilie der „resistin-like molecules“ (RELM), ist ein Cystein-reiches Hormon und wird in Adipozyten von Nagetieren (Steppan et al. 2001) und humanen Makrophagen exprimiert (Patel et al. 2003). Im Serum von Mäusen kommt Resistin als Trimer und Hexamer vor (Abbildung 4). Im humanen Blut zirkuliert das Adipokin als Dimer, bestehend aus zwei je 92 Aminosäuren enthaltenden Polypeptiden, welche durch Disulfidbrücken miteinander verbunden sind (Aruna et al. 2003). Seine Produktion wird durch Nahrungsaufnahme und Adipositas erhöht und sinkt durch Gabe von PPAR- γ -Liganden (Rajala et al. 2004).



Abbildung 4: Multimere Struktur des Resistins

(Patel et al. 2004)

Über den intrazellulären Signalweg über den Resistin seine metabolischen Wirkungen entfaltet ist noch recht wenig bekannt. Resistin ist an der Stoffwechselregulation verschiedener Gewebe und Organe, wie Adipozyten, Hypothalamus und Leber beteiligt. In vivo wurde gezeigt, dass Resistin die AMPK-Aktivierung in Leber und Muskel unterdrückt (Banerjee et al. 2004, Satoh et al. 2004, Qi et al. 2006). Rezeptoren wurden bisher nicht beschrieben.

Studien, die Resistin eine kausale Rolle in der Glukosehomöostase zuschreiben, basieren zumeist auf Tiermodellen. Bei Mäusen führten Infusion oder Überexpression von Resistin über eine gesteigerte hepatische Glukoseproduktion zu Hyperglykämie (Banerjee et al. 2004, Qi et al. 2006). Umgekehrt schützten verminderte Resistinspiegel vor Adipositas-induzierter Hyperglykämie durch Wiederherstellung der hepatischen Insulinsensitivität (Steppan et al. 2001, Banerjee et al. 2004, Muse et al. 2004).

Obwohl die Daten im Tierexperiment vielversprechend scheinen, ist die Bedeutung von Resistin bei humaner Insulinresistenz umstritten. Ein Anstieg des Serumresistins bei adipösen Typ 2-Diabetikern konnte nicht von allen Studien bestätigt werden (Sentinelli et al. 2002). Eine 2008 durchgeführte Untersuchung an Nachkommen der Framinghamstudie zeigte einen signifikanten Zusammenhang zwischen Resistin und Insulinresistenz auf (Hivert et al. 2008). Sowohl die Gabe von TZD, als auch die Verabreichung von Metformin führten zu einer Verminderung der Resistin-Spiegel (Kamin et al. 2005, Rasouli et al. 2006).

Zudem spielt Resistin eine Rolle bei inflammatorischen Prozessen. So wird die Expression des Peptides in humanen mononukleären Zellen des peripheren Blutes durch proinflammatorische Zytokine wie TNF- α und IL-6 erhöht (Kaser et al. 2003).

Die Expression und Regulation von Resistin im Rattenhoden wurde erstmals durch Nogueiras et al. (2004) beschrieben. Die testikuläre Genexpression von Resistin wurde während der gesamten postnatalen Entwicklung nachgewiesen, mit maximalen m-RNA-Spiegeln bei adulten Ratten. Die testikuläre Expression unterlag der hormonellen Regulation

der Gonadotropine. Zudem riefen Nahrungskarenz und zentrale Gabe von Leptin eine signifikante Reduktion an testikulärer Resistin-m-RNA hervor (Nogueiras et al. 2004).

2.4.4 Chemerin

Chemerin („retinoic acid receptor responder 2“, „tazarotene-induced gene 2“) ist ein 16 kDa Chemokin, welches vor allem im Fettgewebe und in der Leber exprimiert wird (Roh et al. 2007). Chemerin wird als inaktive Proform sezerniert und über proteolytische Spaltung durch Serinproteasen aktiviert. Es ist Agonist des G-Protein gekoppelten Rezeptors CMKLR1 (chemokine-like receptor-1), welcher durch Zellen des angeborenen Immunsystems exprimiert wird (Wittamer et al. 2005, Parolini et al. 2007). Das aktive Protein kann pro- und antiinflammatorische Wirkungen entfalten. Chemerin kann als Chemokin Leukozytenmigration und Calciummobilisation induzieren. Zudem ist es in der Lage potente antiinflammatorische Effekte auf aktivierte Makrophagen auszuüben, welche den CMKLR1 exprimieren (Cash et al. 2008).

Das Adipokin Chemerin beeinflusst die Differenzierung von Adipozyten und deren Metabolismus *in vitro* (Roh et al. 2007). In Hinblick auf den Zusammenhang von Chemerin mit Adipositas und Diabetes existieren im Nagetier-Modell widersprüchliche Daten. Es wurde gezeigt, dass die Chemerin Expression im Fettgewebe von *db/db* Mäusen verglichen mit Kontrollen vermindert ist (Takahashi et al. 2008). Im Gegensatz dazu war die Expression von Chemerin im Fettgewebe von an gestörter Glucosetoleranz und Diabetes leidenden Ratten (*Psammomys obesus*) verglichen mit Ratten, die eine normale Glucosetoleranz aufwiesen, signifikant erhöht (Bozaoglu et al. 2007). Zudem wurde gezeigt, dass das Knockout von Chemerin oder dessen Rezeptor die Differenzierung von 3T3-L1 Zellen zu Adipozyten beeinträchtigt, die Expression bestimmter Adipozyten-Gene vermindert und die metabolische Funktion reifer Adipozyten verändert (Stejskal et al. 2008).

Beim Menschen konnten keine signifikanten Unterschiede in den Chemerin-Spiegeln zwischen Typ 2-Diabetikern und normalen Kontrollen nachgewiesen werden. Dennoch waren bei Probanden mit normaler Glucosetoleranz die Chemerin-Spiegel direkt und signifikant mit BMI, Triglyceriden und Blutdruck assoziiert (Bozaoglu et al. 2007).

Eindeutige Zusammenhänge zwischen Chemerin und Reproduktionsfunktionen wurden bisher nicht beschrieben. Die Expression von Chemerin und CMKLR1 konnte jedoch im epididymalen Fettgewebe detektiert werden (Bozaoglu et al. 2007).

2.4.5 Vaspin

„Visceral adipose tissue-derived serpin“ (Vaspin) wurde erstmalig im viszeralen Fettgewebe von OLETF-Ratten, einem durch abdominale Adipositas und Typ 2 Diabetes mellitus gekennzeichneten Tiermodell, isoliert. Das Adipokin besitzt ein Molekulargewicht von 50 kDa und ist Mitglied der Serinprotease-Inhibitorfamilie. Die Expression von Vaspin in OLETF-

Ratten zeigte sich in dem Alter am höchsten als Körpergewicht, Adipositas und Insulinspiegel ihr Maximum erreichten (Hida 2010). Mit zunehmenden Alter und Verschlechterung der Hyperglykämie kam es zu einer Verringerung der Vaspin-Serumkonzentration und dessen Expression im Fettgewebe (Hida 2010). Eine Insulin- und Pioglitazontherapie hingegen führte zu einer Normalisierung zirkulierender Vaspinkonzentrationen (Hida 2010). Im Mausexperiment konnte gezeigt werden, dass Vaspingabe die Glukosetoleranz, Insulinsensitivität und Expression von Kandidatengenen der Insulinresistenz verbesserte (Hida 2010).

Auch im humanen Fettgewebe wurde eine viszeral-betonte Expression von Vaspin bestätigt (Kloting et al. 2006). Diese konnte bei adipösen, nicht aber bei normalgewichtigen Individuen mit normaler Glukosetoleranz nachgewiesen werden (Kloting et al. 2006). Zudem wurde aufgezeigt, dass Vaspin-Konzentrationen beim Menschen geschlechtsabhängig sind und mit dem Körperfettgehalt korrelieren (Youn et al. 2008). Allerdings scheint dieser Zusammenhang durch eine gestörte Glucosehomöostase beeinflusst zu sein. Interessanterweise wird die Vaspinkonzentration durch körperliche Aktivität beeinflusst. Während ein hoher Grad an Fitness mit niedrigen Vaspinspiegeln korrelierte, führte physisches Training Untrainierter zum Anstieg der Vaspin-Serumkonzentration (Youn et al. 2008).

Vor kurzem wurde die Expression von Vaspin in der humanen Plazenta beschrieben (Caminos et al. 2009). Für Verbindungen zwischen dem Adipokin und der männlichen Fertilität existiert derzeit keine Evidenz.

2.4.6 Visfatin

Visfatin, auch als "pre-B cell colony-enhancing factor" (PBEF) oder „nicotinamide phosphoribosyltransferase“ (Nampt) bezeichnet, wurde 2005 als neuartiges vorwiegend im viszeralen Fettgewebe exprimiertes Adipokin identifiziert. Die Plasmaspiegel des 55 kDa Protein korrelieren beim Menschen mit der viszeralen Fettmasse (Fukuhara et al. 2005). Die Proteinstruktur von Visfatin im Komplex mit Nikotinamid-Mononukleotid (NMN) zeigt Abbildung 5.

Laut Fukuhara et al. (2005) weist Visfatin in vivo und in vitro insulinmimetische Effekte auf. So führte die Visfatingabe in verschiedenen Nagetiermodellen der Insulinresistenz und Adipositas zur Senkung der Glucosespiegel (Fukuhara et al. 2005). Zudem stimulierte das Adipokin die basale Glucoseaufnahme in 3T3-L1 Adipozyten und L6 Myozyten in vitro. In H4IIEC3 Hepatozyten hemmte Visfatin in vitro die Gluconeogenese. Diese Effekte waren durch eine direkte Stimulation des Insulinrezeptors bedingt, wobei eine andere Bindungsstelle genutzt wurde als durch Insulin (Fukuhara et al. 2005). Einige nachfolgende Studien konnten Teilaspekte der initialen Untersuchung bestätigen. So waren in einer Studie erhöhte Visfatin-Spiegel unabhängig assoziiert mit einem Typ 2 Diabetes mellitus (Chen et

al. 2006). Andere Arbeiten konnten keinen Zusammenhang zwischen Visfatin und viszeralen Fettgewebe oder Parametern der Insulinsensitivität nachweisen (Berndt et al. 2005, Oki et al. 2007).

Neuere Daten weisen auf eine wichtige Rolle von Visfatin auf die pankreatische β -Zell-Funktion hin (Revollo et al. 2007). Revollo et al. (2007) zufolge resultierte Haplodefizienz oder chemische Inhibition von Visfatin in einer signifikant erniedrigten NAD-Synthese und Glukose-stimulierten Insulin-Sekretion in pankreatischen Inselzellen. Die Autoren widerlegten in ihrer Studie die Behauptung Visfatin besäße insulinmimetische Effekte, schrieben ihm aber NAD-Biosynthese Aktivität zu. Nach diesen neuen Erkenntnissen zogen Fukuhara et al. 2007 ihr ehemals veröffentlichtes Paper zurück.

Die hormonelle Regulation von Visfatin wurde in mehreren Studien untersucht. Eine der Arbeiten zeigte, dass IL-6 die Visfatin m-RNA-Expression zeit- und dosisabhängig inhibiert (Kralisch et al. 2005a). Eine weitere Studie berichtete, dass die bei Insulinresistenz induzierenden Hormone GH, TNF- α und Isoproterenol die Visfatin m-RNA-Synthese um fast 50% inhibierten. Im Gegensatz dazu kam es nach Dexamethasongabe zu einem fast 1,5-fachen signifikanten Anstieg der Visfatin mRNA (Kralisch et al. 2005b). Die Expression von Visfatin korrelierte positiv mit Serumspiegeln an IL-6 und CRP und scheint damit eine entscheidende Rolle bei Entzündungsprozessen zu spielen (Oki et al. 2007).

Der Nachweis von Visfatin c-DNA Expression im Hoden von Hähnen ließ einen Einfluss von Visfatin auf die Reproduktion der Tiere vermuten. Vor allem der wesentlich niedrigere Gehalt an Visfatin m-RNA im präpubertären Hoden, verglichen mit dem adulten Hahn Hoden, ließ darauf schließen, dass das Adipokin eine Rolle bei der sexuellen Entwicklung der Tiere spielt (Ocon-Grove et al. 2010).

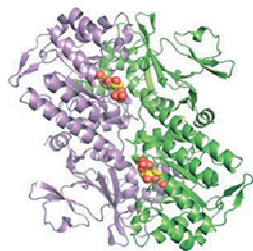


Abbildung 5: Maus-Visfatin im Komplex mit Nikotinamid-Mononukleotid

(Sommer et al. 2008)

2.4.7 Progranulin

Progranulin, auch unter dem Namen Granulin-Epithelin-Precursor, Acrogranin, Proepithelin und PC cell-derived growth factor bekannt, ist ein sekretiertes Protein mit wichtigen

Funktionen in verschiedenen Prozessen, einschließlich Immunantwort und Embryonalentwicklung (Tolkatchev et al. 2008). Es handelt sich dabei um ein 68,5 kDa großes, 593 Aminosäuren umfassendes Protein, das stark glykolisiert vorliegt und daher in vivo eine Größe von ungefähr 90 kDa aufweist (Daniel et al. 2003).



Abbildung 6: Proteinstruktur des Granulins
(Fragment des
Progranulinmoleküls)
(Hrabal et al. 1996)

Als Granuline oder Epitheline bezeichnet man die mittels proteolytischer Spaltung aus Progranulin entstehenden 6-25 kDa großen Fragmente (Abbildung 6). Einige dieser Granuline/Epitheline sind in der Lage in-vitro das Wachstum von Zellen zu modulieren (Bateman und Bennett 1998).

Daniel et al. (2000) untersuchten mit Hilfe von In-situ-Hybridisierung die Genexpression der Granuline/Epitheline. Dabei konnte gezeigt werden, dass Progranulin konstitutiv in einer Reihe von Epithelien, insbesondere Haut, GIT und Reproduktionssystem exprimiert wurde. Eine geringere Expression wiesen Immunzellen in vivo, spezifischen Neurone des Gehirns, Muskelzellen, Bindegewebe und Endothelien auf (Daniel et al. 2000). Zudem wurde die Genexpression von Progranulin im Akrosom von Mäuse- und Meerschweinchen-Spermien, (Baba et al. 1993), sowie in Oozyten (Cuevas-Antonio et al. 2010) beobachtet, welche in vitro die Entwicklung des frühen Embryos (Qin et al. 2005) modulierte.

In diversen Studien verursachten autosomal dominante Mutationen im Progranulin-Gen frontotemporale Demenz (Gijselinck et al. 2008), während Überexpression von Progranulin die invasive Progression einer Reihe von Tumoren, wie Brust- und Hirntumoren, förderte (Eriksen und Mackenzie 2008). Bei malignen Tumoren des Ovars zeigte sich gegenüber normalem Ovarialgewebe und benignen Ovarialtumoren eine Überexpression von Progranulin (Cuevas-Antonio et al. 2010).

Progranulin spielt außerdem bei Wundheilung und Entzündung eine Rolle (Zhu et al. 2002, He et al. 2003). Bei der Wundheilung führt die Induktion von Progranulin zur Stimulation von Neutrophilen- und Makrophageninfiltration sowie zur Neovaskularisation im Wundgewebe (Zhu et al. 2002).

Der Zusammenhang zwischen humanen Progranulin, Adipositas und Diabetes mellitus Typ 2 wurde von Youn et al. (2009) untersucht. Dabei zeigte sich, dass bei Typ 2 Diabetikern die Plasmaspiegel von Progranulin im Vergleich zur Glucose-toleranten Gruppe signifikant erhöht waren. Zirkulierendes Progranulin korrelierte signifikant mit BMI, Makrophageninfiltration im omentalen Fettgewebe, Serumkonzentrationen an CRP, HbA1c-Werten und totalem Cholesterol. Vierwöchiges körperliches Training führte bei den Diabetikern zum Abfall der Progranulin-Spiegel. Erhöhte Serumkonzentrationen dieses Adipokins waren verbunden mit viszeraler Adipositas, erhöhten Glukosespiegeln im Plasma und Dyslipidämie (Youn et al. 2009).

2.5 Die Blut-Hoden-Schranke

Bei der Blut-Hoden-Schranke handelt es sich um eine von Sertoli-Zellen mit Hilfe von Zell-Zell-Kontakten (Zona occludens) aufgebaute Barriere zwischen Keimzellen und Immunsystem. Ergänzt wird diese durch eine vaskuläre Barriere, welche das testikuläre Interstitium von der Zirkulation separiert (Ploen und Setchell 1992). Durch die Blut-Hodenschranke wird das Keimepithel in zwei Regionen geteilt, die anatomisch und funktionell völlig verschieden sind. Im basalen Bereich befinden sich die frühen Keimzellen, im adluminalen hingegen die weiter entwickelten und ausgereiften Keimzellen (Spermatozyten, Spermatisden und Spermien). Während der Entwicklung der Keimzellen werden diese durch die Blut-Hoden-Schranke regelrecht durchgeschleust. Die Ausbildung dieser Schranke und deren Molekül-Selektivität bedingt, dass für die im adluminalen Kompartiment gelegenen Zellen kein Zugang zu Metaboliten der Peripherie oder dem Interstitium besteht. Diese Keimzellen sind auf die Versorgung durch die Sertolizellen angewiesen (Nieschlag et al. 2009).

2.6 Fragestellung

Die Auswirkungen der durch Fettleibigkeit entstehenden pathophysiologischen Veränderungen auf die männliche Fertilität und in diesem Zusammenhang auftretenden Veränderungen des Spermioграмms sind noch nicht ausreichend verstanden. Wie auch in anderen Organsystemen könnten Sekretionsprodukte des Fettgewebes, sogenannte Adipokine, eine entscheidende Rolle in der Pathogenese Adipositas-assoziiierter Spermienveränderungen spielen. Laut unserer Hypothese könnte eine veränderte Adipokinproduktion die kausale Verbindung zwischen Adipositas und gestörter männlicher Fertilität darstellen. In diesem Zusammenhang sollen folgende Fragestellungen in einer Querschnittsstudie mit normalgewichtigen, präadipösen und adipösen Probanden überprüft werden:

- In welchem Maße beeinflusst der BMI die Serumkonzentration an Sexualhormonen, das klassische Spermogramm und die Adipokinkonzentration in Serum und SP?
- Wie unterscheiden sich die Konzentrationen der Adipokine in Serum und Seminalplasma in der Gesamtpopulation?
- Welche statistischen Zusammenhänge zeigen sich zwischen Adipokinen, Sexualhormonen und Spermogrammparametern

3 Material und Methoden

Alle Untersuchungen wurden in der Abteilung Andrologie der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie und dem Institut für Laboratoriumsmedizin, Klinische Chemie und Molekulare Diagnostik, Universität Leipzig durchgeführt.

3.1 Material und Geräte

Eppendorf-Pipette	Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
Pipettenspitzen (10, 200, 1000 µL)	Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland
Eppendorf Tips Standard/Bulk 100-5000 µL	Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
Mehrkanal-Pipette	Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
Vortex-Genie 2	Scientific Industries, Bohemia, N.Y., U.S.A
Plattenschüttler	Heidolph Instruments, Rotamax 120, Schwabach, Deutschland
Mikroröhre 2 mL mit Verschluss	Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland
Röhre 4,5 mL, konisch	Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland
Probenständer	Roth, Karlsruhe, Deutschland
Wallac 1420 Victor Multilabel Counter	Perkin Elmer, Rodgau, Deutschland
Handy Aspirator WP-25	Yamato, Scientific Co., LTD, Japan
Varifuge 3.OR	Heraeus Sepatech, Osterode, Deutschland
Centrifuge 5415 C	Eppendorf GmbH, Engelsdorf, Deutschland
Berthold-Gammacounter LB 2111	Berthold Technologies, Bad Wildbad, Deutschland
Trockenschrank Incuce II	MMM Medcenter, Planegg, Deutschland
Biomedical freezer, -40°C	Sanyo, Leicestershire, UK
Tiefkühlschrank, -80°C	Heraeus Thermo, Langenselbold, Deutschland
Kühlschrank, -20°C	Liebherr, Bulle, Schweiz

3.2 Enzyme-linked Immunosorbent Assay

Zur Messung der Adipokine im Serum und SP wurden folgende Kits verwendet:

- ELISA-Kits (Mediagnost, Reutlingen, Deutschland):

Adiponektin, Resistin, Chemerin und Progranulin

- ELISA-Kits (AdipoGen, Incheon, Korea):

Vaspin und Visfatin (Namppt)

3.2.1 Reagenzien und Ablauf der Tests

Eine Gegenüberstellung der im Kit vorhandenen Reagenzien und deren Vorbereitung demonstrieren Tabelle 1 und Tabelle 3. Die Unterschiede in der Durchführung der 6 verschiedenen Kits zeigen Tabelle 2 und Tabelle 4.

Tabelle 1: Inhalt der Testkits und Vorbereitung der Reagenzien (Adiponektin, Resistin, Chemerin und Progranulin)

Kit-Komponenten	Adiponektin-ELISA E09 Mediagnost	Resistin ELISA E50 Mediagnost	Chemerin ELISA E102 Mediagnost	Progranulin ELISA E103 Mediagnost
Mikrotiterplatte (MTP)	Gebrauchsfertig, 96 Vertiefungen, beschichtet mit einem Antikörper gegen humanes Testantigen			
Standards	A-E, lyophilisiert, enthalten natives Adiponektin, Rekonstitution mit 750 µL VP, 2; 10; 30; 70; 100 ng/mL	A-E, lyophilisiert, enthalten rekombinantes Resistin, Rekonstitution mit 750 µL PP, 20; 100; 300; 600; 1000 pg/mL	A-E, lyophilisiert enthalten rekombinantes Chemerin, Rekonstitution mit 1 mL VP, 25; 100; 250; 400; 600 pg/mL	A-E, lyophilisiert, enthalten rekombinantes Progranulin, Rekonstitution mit 1 mL VP, 75; 250; 750; 1500; 2500 pg/mL
Verdünnungspuffer (VP)	Gebrauchsfertig, Verwendung zur Rekonstitution und Verdünnung			
Probenpuffer (PP)	Nicht enthalten	Gebrauchsfertig	Nicht enthalten	Nicht enthalten
Kontrollseren (KS)	KS1 & KS2, lyophilisiert, enthalten humanes Serum, Rekonstitution in 500 µL VP, Verdünnung wie Serumproben	KS, lyophilisiert, enthalten humanes Serum, Rekonstitution in 100 µL VP, Verdünnung wie Serumproben	KS1 & KS2, lyophilisiert, enthalten humanes Serum, Rekonstitution in 250 µL VP, Verdünnung wie Serumproben	KS1 & KS2, lyophilisiert, enthalten humanes Serum, Rekonstitution in 250 µL VP, Verdünnung wie Serumproben
Antikörperkonjugat (AK)	Gebrauchsfertig, Antikörper-POD-Konjugat, enthält eine Mischung von biotinyliertem anti-	Verdünnung mit VP 1:100, enthält biotinylierten anti-Resistin Antikörper	Gebrauchsfertig, Antikörper-POD-Konjugat, enthält eine Mischung von biotinyliertem anti-	Gebrauchsfertig, enthält biotinylierten anti-human Progranulin Antikörper

	Adiponektin Antikörper und POD -markiertem Streptavidin		Chemerin Antikörper und POD -markiertem Streptavidin	
Waschpuffer (WP)	Verdünnung mit Aqua dest. 1:20			
Substrat (S)	Gebrauchsfertig, POD-Substrat, stabilisiertes H ₂ O ₂ -Tetramethylbenzidin			
Enzymkonjugat (EK)	Nicht enthalten	Verdünnung mit VP 1:100, enthält POD -markiertes Streptavidin	Nicht enthalten	Gebrauchsfertig, enthält POD -markiertes Streptavidin
Stopplösung (SL)	Gebrauchsfertig, enthält 0,2 M Schwefelsäure			
Verdünnung von Serum-Proben	1 : 310 mit VP	1 : 21 mit PP	1 : 505 mit VP	1 : 41 mit VP
Verdünnung von SP-Proben	1 : 2 mit VP	1 : 20 mit PP	1 : 800 mit VP	1 : 2000 mit VP

Tabelle 2: Durchführung der Tests (Adiponektin, Resistin, Chemerin und Progranulin)

Adiponektin-ELISA E09 Mediagnost	Resistin ELISA E50 Mediagnost	Chemerin ELISA E102 Mediagnost	Progranulin ELISA E 103 Mediagnost
<ul style="list-style-type: none"> • Zugabe von jeweils 100 µL VP (Leerwert), Standard A-E, KS1&2 und Proben in die MTP • Inkubation: 1 h bei RT, ≥ 350 upm • Ausklopfen und 3x mit je 250 µL WP pro Vertiefung waschen • 100 µL AK pro Vertiefung dazugeben • Inkubation: 0,5 h bei RT, ≥ 350 upm • Ausklopfen und 3x mit je 250 µL WP pro Vertiefung waschen • 100 µL S pro Vertiefung 	<ul style="list-style-type: none"> • Zugabe von jeweils 100 µL VP (Leerwert), Standard A-E, KS und Proben in die MTP • Inkubation: 2 h bei RT, ≥ 350 upm • Ausklopfen und 3x mit je 250 µL WP pro Vertiefung waschen • 100 µL AK pro Vertiefung dazugeben • Inkubation: 1 h bei RT, ≥ 350 upm • Ausklopfen und 3x mit je 250 µL WP pro Vertiefung waschen • 100 µL EK pro Vertiefung 	<ul style="list-style-type: none"> • Zugabe von jeweils 100 µL VP (Leerwert), Standard A-E, KS 1&2 und Proben in die MTP • Inkubation: 1 h bei RT, ≥ 350 upm • Ausklopfen und 3x mit je 250 µL WP pro Vertiefung waschen • 100 µL AK pro Vertiefung dazugeben • Inkubation: 1 h bei RT, ≥ 350 upm • Ausklopfen und 3x mit je 250 µL WP pro Vertiefung waschen • 100 µL S pro Vertiefung 	<ul style="list-style-type: none"> • 50 µL AK pro Vertiefung dazugeben • Zugabe von jeweils 50 µL VP (Leerwert), Standard A-E, KS1&2 und Proben in die MTP • Inkubation: 1 h bei RT, ≥ 350 upm • Ausklopfen und 5x mit je 250 µL WP pro Vertiefung waschen • 100 µL EK pro Vertiefung zugeben • Inkubation: 0,5 h bei RT, ≥ 350 upm • Ausklopfen und 5x mit je 250 µL WP pro Vertiefung

<p>zugeben</p> <ul style="list-style-type: none">• Inkubation: 0,25 h im Dunklen bei RT• 100 μL SL zugeben• Ausmessung der OD bei 450 nm	<p>zugeben</p> <ul style="list-style-type: none">• Inkubation: 0,5 h bei RT, ≥ 350 upm• Ausklopfen und 3x mit je 250 μL WP pro Vertiefung waschen• 100 μL S pro Vertiefung zugeben• Inkubation: 0,5 h im Dunklen bei RT• 100 μL SL zugeben• Ausmessung der OD bei 450 nm	<p>zugeben</p> <ul style="list-style-type: none">• Inkubation: 0,5 h im Dunklen bei RT• 100 μL SL zugeben• Ausmessung der OD bei 450 nm	<p>waschen</p> <ul style="list-style-type: none">• 100 μL S pro Vertiefung zugeben• Inkubation: 0,5 h im Dunklen bei RT• 100 μL SL zugeben• Ausmessung der OD bei 450 nm
---	--	--	---

Tabelle 3: Inhalt der Testkits und Vorbereitung der Reagenzien (Vaspin und Visfatin)

Kit-Komponenten	Vaspin (human) ELISA AdipoGen	Nampt (Visfatin/ PBEF) (human) ELISA AdipoGen
Mikrotiterplatte (MTP)	Gebrauchsfertig, 96 Vertiefungen, beschichtet mit einem monoklonalen Antikörper gegen humanes Testantigen	
Standards	1 Ausgangs-Standard 2,0 ng/mL, lyophilisiert, enthält rekombinantes humanes Vaspin, Rekonstitution mit 1 mL Aqua dest., Herstellung einer Standardreihe 0-7 mit 0; 0,016;0,031; 0,063; 0,125; 0,25; 0,5; 1 ng/mL (mit VP)	1 Ausgangs-Standard 16,0 ng/mL, lyophilisiert, enthält rekombinantes humanes Visfatin, Rekonstitution mit 1 mL Aqua dest., Herstellung einer Standardreihe 0-7 mit 0; 0,125; 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8; 16 ng/mL (mit VP)
Verdünnungspuffer (VP)	Verdünnung 1:10 mit Aqua dest.	
Kontrollseren (KS)	QC Probe, lyophilisiert, enthält rekombinantes humanes Testantigen, Rekonstitution in 1 mL Aqua dest.	
Antikörperkonjugat (AK)	Gebrauchsfertig, enthält polyklonalen Antikörper gegen humanes Testantigen	
Waschpuffer (WP)	Verdünnung mit Aqua dest. 1:10	
Substrat (S)	Gebrauchsfertig, enthält Chromogenes Reagenz	
Detektor (D)	Verdünnung mit VP 1:100, enthält HRP konjugiertes Kanninchen IgG	
Stopplösung (SL)	Gebrauchsfertig, enthält 1M H ₃ PO ₄	
Verdünnung von Serum-Proben	1 : 5 mit VP	unverdünnt
Verdünnung von SP-Proben	1 : 20 mit VP	1 : 400 mit VP

Tabelle 4: Durchführung der Tests (Vaspin und Visfatin)

Vaspin (human) ELISA AdipoGen	Nampt (Visfatin/ PBEF) (human) ELISA AdipoGen
<ul style="list-style-type: none"> • Zugabe von jeweils 100 µl Standard 0-7, QC und Proben in die MTP • Inkubation: 1 h bei 37°C • Ausklopfen und 3x mit je 300 µL WP pro Vertiefung waschen • 100 µL AK pro Vertiefung dazugeben • Inkubation: 1 h bei 37°C • Ausklopfen und 3x mit je 300 µL WP pro Vertiefung waschen • 100 µL D in jede Vertiefung pipettieren • Inkubation: 1 h bei 37°C • Ausklopfen und 5x mit je 300 µL WP pro Vertiefung waschen • 100 µL S pro Vertiefung zugeben • Inkubation: 20 min im Dunklen bei RT • 100 µL SL zugeben • Ausmessung der OD bei 450 nm 	<ul style="list-style-type: none"> • Zugabe von je 100 µl Standard 0-7, QC und Proben in die MTP • Inkubation: über Nacht bei 4°C • Ausklopfen und 3x mit je 300 µL WP pro Vertiefung waschen • 100 µL AK pro Vertiefung dazugeben • Inkubation: 1h bei 37°C • Ausklopfen und 3x mit je 300 µL WP pro Vertiefung waschen • 100 µL D in jede Vertiefung pipettieren • Inkubation: 1h bei 37°C • Ausklopfen und 5x mit je 300 µL WP pro Vertiefung waschen • 100 µL S pro Vertiefung zugeben • Inkubation: 10 min im Dunklen bei RT • 100 µL SL zugeben • Ausmessung der OD bei 450 nm

3.2.2 Methodik

Als ELISA wird ein immunologisches Nachweisverfahren bezeichnet, das eine feste Phase zur Bindung des Antigens und eine enzymatische Farbreaktion zu dessen quantitativen Nachweis nutzt. Bei den durchgeführten Assays handelte es sich um sogenannte Sandwich-ELISAs unter Verwendung zweier spezifischer und hochaffiner Antikörper.

Vor der Bearbeitung der Mikrotiterplatte mussten zunächst, je nach eingesetztem Assay, die Reagenzien rekonstituiert und vorbereitet werden. Kontrollseren und Serumproben wurden mit dem gleichen Verdünnungsfaktor verdünnt. SP-Proben wurden entsprechend unserer Test-Validierung, mit dem von uns ermittelten Verdünnungsfaktor, eingesetzt. Anschließend begann die Zugabe der Reagenzien auf die Mikrotiterplatte. Nur beim Progranulin-ELISA musste zunächst das Antikörperkonjugat in alle Vertiefungen pipettiert werden. In die ersten beiden Wells wurde zur Bestimmung des Leerwertes nur Verdünnungspuffer gegeben. Beim Vaspin- und Visfatin-ELISA entsprach dies dem Standard 0. Die folgenden Kavitäten erhielten jeweils Standard bzw. Kontrollseren als Doppelbestimmungen. Alle SP- und Serumproben wurden als Einzelbestimmungen pipettiert. Bei jeder Messung wurde in den letzten Kavitäten eine SP-Kontrolle normalgewichtiger Spender zum Ausschluss von Messabweichungen zwischen verschiedenen Messtagen mitgeführt. Nach Abdeckung der Testplatte folgte die erste Inkubationszeit. Dabei kam es zur Bindung zwischen dem an der Mikrotiterplatte gekoppelten ersten Antikörper (Coating-Antikörper) und dem Testantigen aus der Probe. In einem anschließenden Waschschriff wurden die ungebundenen Bestandteile der Proben entfernt. Nach Zugabe des Antikörperkonjugats konnte das immobilisierte Antigen durch einen zweiten spezifischen Antikörper (Detection-Antikörper) gebunden werden. Dieser erkannte ein anderes Epitop als der Coating-Antikörper und lag zumeist als Mischung mit einem Streptavidin-Peroxidase-Enzymkonjugat vor. In einem zusätzlichen Reaktionsschritt wurde beim Resistin- und Progranulin-ELISA POD-markiertes Streptavidin als Enzymkonjugat, beim Vaspin- und Visfatin-ELISA-Kit Meerrettichperoxidase (HRP)-markiertes Kaninchen IgG als Detektor auf die Platte gegeben. Nach dem anschließenden Inkubieren und Waschen der Platte wurde Substrat in alle Kavitäten pipettiert. Der zu beobachtende Farbumschlag war Folge der spezifischen Reaktion zwischen Substrat und antikörpergekoppeltem Enzym. Die Intensität der Färbung war proportional zum Antigen-Gehalt der Vertiefungen. Die Enzymreaktion wurde nach einer weiteren Inkubationszeit im Dunklen bei Raumtemperatur durch die Zugabe der Stopplösung beendet. Mit einem Photometer wurde die Absorption bei 450 nm gemessen. Mit Hilfe der gemessenen Standardsignale konnte eine Absorptions-Konzentrationskurve erstellt werden, durch die die Quantifizierung der Antigenkonzentration der Kontrollseren, Serum- und SP-Proben gelang. Alle drei mussten vor der Auswertung mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor multipliziert werden.

3.3 Radioimmunoassay

Zur Messung des Adipokins Leptin im Serum und SP wurde der Radioimmunoassay der Firma Mediagnost (Reutlingen, Deutschland) verwendet

3.3.1 Reagenzien

Die im RIA-Kit vorhandenen Reagenzien und deren Vorbereitung demonstriert Tabelle 5.

Tabelle 5: Inhalt des Testkits und Vorbereitung der Reagenzien

Reagenz	Human-Leptin-RIA Sensitiv mediagnost	Bemerkung
A	Verdünnungspuffer	Gebrauchsfertig
B	1. Antikörper	Lyophilisiert, besteht aus Kaninchen-anti-human Leptin, Rekonstitution mit 13 mL Reagenz A
C	Tracer	Lyophilisiert, besteht aus ¹²⁵ I-Leptin, ≤ 60 kBq, Rekonstitution mit 13 mL Reagenz A
D	Kaninchen IgG zur Bestimmung der unspezifischen Bindung	Lyophilisiert, Rekonstitution mit 1 mL Reagenz A
F-L	7 Standards	Gebrauchsfertig, enthalten 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8; 16 ng/mL rekombinates Leptin
M, N	Hohe und niedrige Kontrolle	Lyophilisiert, enthalten definierte Leptinkonzentrationen in Human-Serum, Rekonstitution mit 750 µL Reagenz A
O	2. Antikörper	Lyophilisiert, besteht aus Anti-Kaninchen IgG, Rekonstitution mit 1 mL Reagenz A (erst unmittelbar vor Gebrauch)
P	Präzipitations-Reagenz	Gebrauchsfertig nach Zugabe von Reagenz O (Verhältnis 1:66)

3.3.2 Methodik

Der Radioimmunoassay beruht auf einer Radioaktivitätsmessung zum quantitativen Nachweis des Antigens. Zur Durchführung des Human-Leptin-RIAs wurden 3 Tage benötigt. Nach Rekonstitution der Reagenzien B, D, M und N mussten diese zunächst 30 Minuten bei Raumtemperatur stehen gelassen und dann gevortext werden. Die rekonstituierten Kontrollen M und N wurden im Anschluss 1:3 mit Reagenz A verdünnt. Zudem wurde ein zusätzlicher Standard mit der Konzentration 0,05 ng/mL hergestellt, indem 60 µL Standard F in 240 µL Reagenz A gelöst wurden. Dies war nötig um die im Vergleich zum Serum relativ niedrigen Leptinwerte im Seminalplasma präzise bestimmen zu können. Nach Abschluss der Reagenzienvorbereitung wurden die beschrifteten konischen Reaktionsröhrchen nach Pipettierschema mit 100 µL Reagenz A, Standards F-L, verdünnten Kontrollen M&N, Reagenz D und verdünnten Proben befüllt. Dabei wurden die Serumproben 1:3 und die SP-Proben 1:4 mit Reagenz A verdünnt. Anschließend wurden 100 µL Reagenz B ab dem Röhrchen 5 (B0, Nullstandard) dazugegeben, alle Röhrchen gevortext, abgedeckt und über Nacht (mindestens 15 h) bei Raumtemperatur inkubiert. In dieser Zeit kam es zur Bindung zwischen dem polyklonalen anti-Leptin Antikörper vom Kaninchen und dem Probenantigen in den Reaktionsröhrchen.

Tag zwei begann mit der Rekonstitution des Tracers. Nach 30 minütiger Zeit zur Lösung des Lyophilisats folgte die Zugabe des Tracers in alle Röhrchen. Röhrchen 1 und 2 (Gesamtaktivität) wurden mit einem Stopfen verschlossen und bis zur Messung mit dem Gamma-Counter beiseite gestellt. Die restlichen Röhrchen wurden mit dem Vortex-Mixer gemischt und über Nacht (mindestens 15 h) bei Raumtemperatur ein weiteres Mal inkubiert. Bei Zugabe des Tracers fand eine kompetitive Reaktion statt. Durch die Konkurrenz des markierten (^{125}I -Leptin) mit dem nicht-markiertem Antigen (Leptin in der Probe) um den Antikörper gelangte eine definierte Menge an markiertem Antigen in den ungebundenen Zustand. Diese Menge war proportional zu dem vorhandenen Verhältnis von markiertem zu nicht-markiertem Antigen.

Am nächsten Tag wurde Reagenz O rekonstituiert, 30 Minuten bei RT stehen gelassen und anschließend mit Reagenz P im Verhältnis 1:66 gemischt und zu den Röhrchen gegeben. Die Röhrchen wurden gevortext und für 1 h bei 2-4°C inkubiert. Es kam zur Bindung zwischen dem 2. Antikörper und dem 1. Antikörper. Nach Abschluss der Inkubationszeit wurden die Röhrchen gekühlt für 20 Minuten bei 3000 x g zentrifugiert. Dabei setzten sich leptingebundene Antikörper im Komplex mit Polyethylenglykol als Pellet am Boden des Röhrchens ab. Der Überstand wurde abgesaugt, wobei ein Flüssigkeitsrest von ca. 2 mm stehen gelassen wurde. Es folgte ein Waschschriff, bei dem je 1 mL eiskalten Wasser zu den Röhrchen gegeben wurde. Gekühlt wurden die Röhrchen ein weiteres Mal für 5 Minuten bei 3000 x g zentrifugiert. Nach dem Absaugen des Überstandes folgte die Messung aller

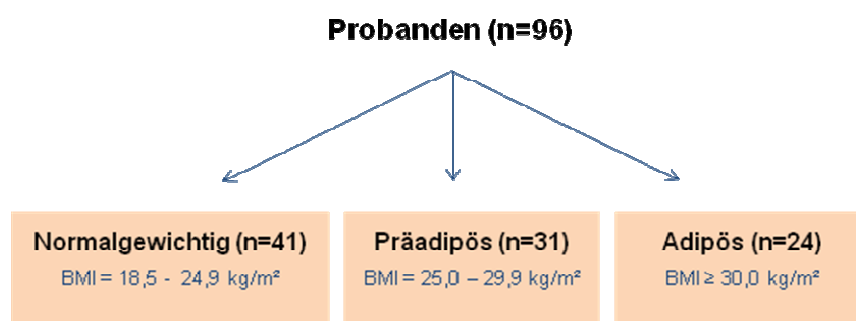
Röhrchen im Gamma-Counter. Dabei wurde die Radioaktivität und damit die Menge an nicht-gebundenen radioaktiven Leptin im Überstand bestimmt. Nach der Erstellung der Standardkurve mit Proben bekannter Konzentration, konnte über die gemessene Radioaktivität auf die Menge an Leptin in der Probe geschlossen werden.

3.4 Validierung der Assays zur Bestimmung von Adipokinen im Seminalplasma

Bei allen Assays ging der Messung der Proben eine Validierungsphase für die Messung im SP voraus. Die analytischen Methoden waren vom Hersteller nur für Bestimmungen im Serum und Plasma (z.T. in Zellkulturmedien, Urin, Speichel, Muttermilch, Zerebrospinalflüssigkeit) ausreichend validiert. Erwartungswerte für die Adipokinkonzentrationen im SP lagen bis dato ebenfalls nicht vor. Um diese abzuschätzen wurden in einem SP-Pool, der sich aus gleichen SP-Volumina von 12 normalgewichtigen Spender zusammensetzte, Verdünnungsreihen erstellt. Die für diesen Pool ermittelten SP-Konzentrationen wurden mit in der Literatur angegebenen Serumkonzentrationen verglichen. Zur Abschätzung der Richtigkeit unserer Messung wurden die optimal verdünnten SP mit verschiedenen Adipokinkonzentrationen aus den jeweiligen Standards des Assays aufgestockt und deren wiedergefundene Konzentration bestimmt. Die mittlere Wiederfindung (Wiederfindung) dieser Aufstockung, sowie die Wiederfindung der SP-Verdünnungsreihen ließen die Richtigkeit der Adipokinmessung beurteilen. Eine Wiederfindung von $100 \pm 30 \%$ wurde als akzeptabel bewertet. Darüber hinaus wurde mit Hilfe von 6-fach-Bestimmungen die Präzision der Adipokinkonzentration bei einem optimalen VF abgeschätzt. Dabei galten CV-Werte $\leq 10 \%$ als akzeptabel. Der optimale VF für das Adipokin wurde so gewählt, dass die gemessenen Adipokinkonzentrationen im mittleren linearen Bereich der Standardkurve lagen.

3.5 Probanden

Zur Durchführung der Querschnittsstudie wurden insgesamt 96 Probanden durch schriftliche Anwerbung rekrutiert. Sie wurden entsprechend ihres BMI nach den WHO-Richtlinien in die Gruppen Normalgewicht, Präadipös und Adipös eingeteilt. Abbildung 7 gibt einen Überblick zur Verteilung der Probanden in den einzelnen Gruppen.

**Abbildung 7: Einteilung der Probanden**

Die Studie umfasste 2 Ejakulatabgaben, eine Blutabnahme und ein Arztgespräch mit körperlicher Untersuchung. Alle Teilschritte fanden in der Abteilung für Andrologie der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie statt. Das Arztgespräch, welches sich an einem allgemeinen Fragebogens orientierte, erfasste die medizinische Anamnese, Nikotin- und Alkoholkonsum und bisherige Vaterschaften. Zudem wurde der BMI und Bauchumfang (BU) der Probanden standardisiert gemessen. Ein unauffälliger andrologischer Status war Voraussetzung für den Einschluss in die Studie. Welche Bestandteile die genitale Untersuchung enthielt und welche Erkrankungen dadurch ausgeschlossen wurden, zeigt Tabelle 6.

Tabelle 6: Erhebung des andrologischen Status

Normaler andrologischer Status	Ausschluss von	Diagnostik
Penis und Skrotum		
normale Form und Größe	Primärer Hypogonadismus und Penisdeviation	Inspektion
Urethralmündung euspad	Epi- oder Hypospadie	Inspektion
Pubesbehaarung		
Normal	Primärer Hypogonadismus	Inspektion
Hoden:		
ovale Form, Volumen zwischen 12-20 ml, prallelastische Konsistenz	Hypogonadismus,	Orchidometer nach Prader, Palpation, Hodensonographie
eutope Lage	Hodenhochstand, Kryptorchismus	Palpation
keine Resistenzen	Tumor	Palpation
Nebenhoden		
weiche Konsistenz, keine	Epididymitis, Verschluss des	Palpation

Schwellung, nicht druckschmerzhaft	Nebenhodengangs, Spermatozele	
Samenleiter tastbar als dünner fester Strang	Ductus Deferens-Aplasie	Palpation
Plexus pampiniformis: keine Erweiterung des Venengeflechts	Varikozele (meist linksseitig)	Palpation am stehenden Patienten, Valsalva-Pressversuch
keine Missempfindungen oder Schmerzen bei der Untersuchung	Infektion	Palpation

Die Probanden durften zum Einschluss in die Studie außerdem keine Drogen konsumieren und keine Hormone substituieren.

Folgende Parameter führten ebenfalls zum Ausschluss aus der Studie:

- Triglyceride > 2.3 mmol/L
- FSH < 1,5 U/L, FSH >12,4 U/L
- DFI > 30%
- CRP > 10 mg/L
- Inhibin B < 50 ng/L, Inhibin B > 325 ng/L
- HbA1c > 6,5%

Alle Spender gaben ihre schriftliche Zustimmung an dieser Studie teilzunehmen (informed consent, Etikvotum: 216-2007).

3.6 Ejakulatanalyse

Jeder Proband gab 2 Ejakulate, im Abstand von mindestens einer Woche ab. Pro Ejakulat wurde ein (nach WHO-Richtlinienänderung zwei) Spermogramm(e) angefertigt und aus beiden der Mittelwert gebildet. Zur Adipokinbestimmung wurde das erste der beiden Seminalplasma genutzt.

3.6.1 Untersuchungsbedingungen

Entsprechend der WHO-Richtlinie (WHO 1999) sollte der Proband vor Abgabe des Ejakulats eine Karenzzeit von 2-7 Tagen einhalten. Ursächlich dafür ist, dass sowohl eine zu kurze, als auch eine zu lange Karenzzeit die Ejakulatqualität beeinträchtigen kann (Matilsky et al. 1993). Das Ejakulat wurde durch Masturbation im Ejakulatorium der Andrologischen Abteilung der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie gewonnen, in einem sterilen Einmalgefäß aufgefangen und anschließend analysiert.

3.6.2 Klassisches Spermogramm

Nach einer Verflüssigungszeit von mindestens 15 Minuten bei 37°C erfolgte die makroskopische Beurteilung von Viskosität, Volumen, Farbe, pH-Wert sowie die mikroskopische Erfassung von Konzentration, Motilität und Morphologie (nach Richtlinien der WHO 1999, 2010). Die Ermittlung der Spermienkonzentration erfolgte durch Auszählung der Spermien in einer Neubauer-Hämatocytozometer (Marienfeld, Deutschland, Mikroskop Jenaval, Carl Zeiss Jena), wobei 20 Millionen Spermatozoen/mL Ejakulat als normwertig akzeptiert wurden. Von der ausgezählten Spermienkonzentration wurde dann auf die absolute Spermienanzahl im Ejakulat geschlossen. Anschließend wurden zur Motilitätsbestimmung insgesamt ca. 200 Spermien bei 40 facher Vergrößerung mittels eines Phasen-Kontrast-Mikroskops ausgezählt und in die folgenden Kategorien eingeteilt

- A Schnelle progressive Beweglichkeit
- B Langsame oder träge progressive Beweglichkeit
- C Lokale, nicht-progressive Beweglichkeit
- D Immobilität

Die Morphologie wurde nach Anilinblaufärbung analysiert. Es wurden 200 aufeinanderfolgende Spermatozoen bei 1000facher Vergrößerung im Lichtmikroskop ausgezählt. Eine Probe mit mindestens 15 % normomorpher Zellen wurde nach strikten Kriterien (Menkveld und Kruger 1995) als regelrecht bewertet. Der DFI wurde mit Hilfe der Acridine-Orange Färbung ermittelt.

3.6.3 Gewinnung und Aufbewahrung des Seminalplasmas

Durch Zentrifugation des Ejakulats wurde das SP gewonnen. Dieses wurde in Eppendorf-Röhrchen abgefüllt und bei -80°C bis zur Verarbeitung eingefroren.

3.7 Analyse der Blutproben

Zur Blutentnahme wurden die Probanden zwischen 8:00 und 11:00 Uhr in die Abteilung Andrologie der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie einbestellt. Es wurden 2 Röhrchen Blut pro Proband aus der Kubitalvene abgenommen, zentrifugiert (2200 rpm, 12 Minuten) und bis zur Analyse bei -80°C eingefroren. Nur ein Röhrchen wurde zur Analyse verwendet, das andere als Reserverprobe aufbewahrt. In den Seren der Probanden wurden mit Unterstützung des Instituts für Laboratoriumsmedizin, Klinische Chemie und Molekulare Diagnostik folgende Parameter bestimmt:

Adiponektin, Resistin, Chemerin, Progranulin	ELISA (Mediagnost, Reutlingen, Deutschland)
Vaspin, Visfatin (Nampt)	ELISA (AdipoGen, Incheon, Korea)
Leptin	RIA (Mediagnost Reutlingen, Deutschland)
Triglyceride	Modular System (Roche, Mannheim, Deutschland)
LH, FSH, Testosteron	Modular System (Roche, Mannheim, Deutschland)
CRP	Modular System (Roche, Mannheim, Deutschland)
Inhibin B	Inhibin B Gen II ELISA (Beckmann Coulter, Krefeld, Deutschland)
HbA1c	Turbidometrischer Assay (Roche-Diagnostics, Deutschland)

3.8 Statistik

Die erhobenen Daten wurden mit Hilfe der Software Statistica 7.1 für Windows (StatSoft, Inc. Tulsa, OK 74104, USA) analysiert. Mit Hilfe der deskriptiven Statistik wurden jeweils die Mittelwerte, Standardabweichungen und Mediane berechnet. Die Prüfung auf Normalverteilung erfolgte mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test. Gepaarter und ungepaarter t-Test sowie für nicht normalverteilte Werte der Mann Whitney U-Test wurden zur Evaluation von Unterschieden je nach Datentyp und Verteilungsmuster herangezogen. Für Korrelationsanalysen verwendeten wir den Spearman-Test.

P-Werte von $< 0,05$ wurden als statistisch signifikant betrachtet. Beim parallelen Vergleich von Parametern zwischen den Gruppen der normalgewichtigen und präadipösen bzw. adipösen Probanden wurde mittels der Bonferoni-Näherung die Signifikanz mit $p < 0,025$ definiert. Ausreißer wurden nach dem Dixon-Test ermittelt und von der weiteren statistischen Berechnung ausgeschlossen. Zur weiteren Untersuchung des Einflusses der Adipositas auf die Zielparameter wurden altersangepasste (gematchte) Subgruppen der Probanden gebildet. Der Intra-Assay Variationskoeffizient (CV) wurde folgendermaßen berechnet:

$$CV (\%) = \frac{\text{Standardabweichung der Adipokinkonzentration} \times 100}{\text{Mittelwert der Adipokinkonzentration}}$$

4 Ergebnisse

4.1 Adipositas und männliche Fertilität

4.1.1 Zusammenhang zwischen BMI und Sexualhormonkonzentrationen sowie Spermogrammparametern

Der Vergleich der anthropometrischen Daten, Sexualhormone und Spermogramm-Parameter bei normalgewichtigen, präadipösen und adipösen Spendern erfolgte mit Hilfe des Mann Whitney U-Test. Korrelationsanalysen wurden mit dem Test nach Spearman durchgeführt.

a) Vergleich der anthropometrischen Daten von normalgewichtigen, präadipösen und adipösen Spendern

Die Gruppe der Probanden mit normalen BMI war, wie in Tabelle 7 ersichtlich, signifikant jünger als die Gruppe der adipösen Spender (Median: 42 Jahre). Beim Vergleich von normalgewichtigen und präadipösen Probanden zeigte sich bei einem Signifikanzniveau von $p < 0,025$ (Bonferoni-Index von 2) kein signifikanter Altersunterschied.

BMI und BU waren entsprechend der Gruppeneinteilung bei den normalgewichtigen Männern mit einem medianen BMI von $22,9 \text{ kg/m}^2$ und einem medianen BU von 85 cm am geringsten und stiegen bei den Präadipösen (BMI= $26,9 \text{ kg/m}^2$, BU=97 cm) und Adipösen (BMI= $32,2 \text{ kg/m}^2$, BU=112 cm) kontinuierlich an.

Tabelle 7: Alter, BMI und Bauchumfang der normalgewichtigen (N), präadipösen (P) und adipösen (A) Probanden-Gruppe

	gesamt	N	P	A	p-Wert (N vs. P)	p-Wert (N vs. A)
Alter (Jahre)						
Anzahl n	96	41	31	24	0,037	0,003*
Median	36	27	35	42		
MW±SD	35,1±11,6	31,3±11,7	35,6±9,94	40,9±11,1		
Bereich	18-64	19-64	23-62	18-58		
BMI (kg/m²)						
Anzahl n	96	41	31	24	<0,001*	<0,001*
Median	25,9	22,9	26,9	32,2		
MW±SD	27,0±5,60	22,5±1,76	27,2±1,48	34,2±5,34		
Bereich	18,9-51,6	18,9-24,8	25,1-29,9	30,1-51,6		
BU (cm)						
Anzahl n	92	39	29	24	<0,001*	<0,001*
Median	94,0	85,0	97,0	112		
MW±SD	96,7±14,5	84,6±6,45	98,0±7,13	115±10,0		
Bereich	67,0-148	67,0-100	87,0-115	103-148		

* Signifikanz für Vergleiche N vs. P bzw. N vs. A bei $p < 0,025$

b) Vergleich der Sexualhormonkonzentrationen von normalgewichtigen, präadipösen und adipösen Spendern im Serum

Für LH und FSH zeigten sich keine signifikanten Konzentrationsunterschiede zwischen den einzelnen Gruppen (Tabelle 8). Demgegenüber war die Testosteron-Konzentrationen der normalgewichtigen Probanden (Median 19,5 nmol/L) signifikant höher als jene der präadipösen (Median= 14,4 U/L) und adipösen Spender (Median=12,8 U/L).

Tabelle 8: Konzentration der Sexualhormone der normalgewichtigen (N), präadipösen (P) und adipösen (A) Probanden-Gruppe

	gesamt	N	P	A	p-Wert (N vs. P)	p-Wert (N vs. A)
LH (U/L)						
Anzahl n	85	37	27	21	0,688	0,391
Median	4,20	4,20	4,40	4,00		
MW±SD	4,39±1,58	4,39±1,36	4,65±1,73	4,05±1,76		
Bereich	1,70-9,70	2,00-7,80	2,10-7,70	1,70-9,70		
FSH (U/L)						
Anzahl n	85	37	27	21	0,283	0,396
Median	3,50	3,37	4,20	3,60		
MW±SD	4,45±2,77	3,96±2,26	4,64±2,60	5,06±3,64		
Bereich	1,20-14,1	1,40-10,6	1,20-11,5	7,13-14,1		
Testosteron (nmol/L)						
Anzahl n	85	37	27	21	0,005*	<0,001*
Median	17,4	19,5	14,4	12,8		
MW±SD	17,0±5,69	20,0±4,80	16,2±5,53	12,6±4,08		
Bereich	7,13-28,3	9,28-31,3	8,57-28,3	7,13-19,4		

* Signifikanz für Vergleiche N vs. P bzw. N vs. A bei $p < 0,025$

c) Vergleich der Spermogrammparameter von normalgewichtigen, präadipösen und adipösen Spendern

Die Unterschiede in den Spermogrammparametern zwischen normalgewichtigen, präadipösen und adipösen Probanden demonstriert Tabelle 9. Dabei zeigte die Gruppe normalgewichtiger Spender im Median (7,00 %) einen signifikant höheren Anteil an normomorphen Spermatozoen als die präadipösen (6,00 %) und adipösen (4,00 %) Spender (Tabelle 9). Die progressive Motilität war bei den Normalgewichtigen mit 50,0 % (Median) signifikant höher als bei den Adipösen (Median=45,0 %). Zudem erwies sich der DFI bei den Normalgewichtigen (3,45 %) als signifikant niedriger, verglichen mit den adipösen Spendern (Median=7,15 %). Bei allen anderen Parametern des Spermogramms zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei Gruppen.

d) Abhängigkeit der Sexualhormone und Spermogrammparameter von anthropometrischen Parametern

In einem weiteren Schritt untersuchten wir, ob es potentielle Assoziationen zwischen den Parametern Alter, BMI und BU mit Sexualhormonen und Spermogrammparametern gab (Tabelle 10). Dabei zeigte sich ein positiver Zusammenhang zwischen dem Hormon FSH und dem Alter der Probanden. Testosteron korrelierte negativ mit dem Alter, dem BMI und dem Bauchumfang der Probanden.

Tabelle 9: Spermogrammparameter der normalgewichtigen (N), präadipösen (P) und adipösen (A) Probanden-Gruppe

	gesamt	N	P	A	p-Wert (N vs. P)	p-Wert (N vs. A)
Volumen (mL)						
Anzahl n	96	41	31	24	0,348	0,112
Median	2,75	3,00	2,75	2,50		
MW±SD	2,95±1,45	3,13±1,39	2,79±1,21	2,83±1,84		
Bereich	0,40-10,0	0,40-7,00	1,00-6,25	1,00-10,0		
pH						
Anzahl n	96	41	31	24	0,375	0,455
Median	7,74	7,83	7,70	7,85		
MW±SD	7,79±0,17	7,78±0,21	7,76±0,12	7,83±0,14		
Bereich	6,85-8,00	6,85-8,00	7,50-8,00	7,65-8,00		
Konzentration (*10⁶/mL)						
Anzahl n	96	41	31	24	0,071	0,709
Median	79,9	89,0	70,8	91,3		
MW±SD	92,4±103	107±137	69,1±47,3	96,5±88,2		
Bereich	2,00-905	5,00-905	5,80-229	2,00-397		
Spermienanzahl						
Anzahl n	96	41	31	24	0,084	0,471
Median	182	215	142	203		
MW±SD	237±202	278±223	179±122	243±234		
Bereich	6,00-1008	17,8-947	6,90-435	6,00-1008		
Progressive Motilität (a+b%)						
Anzahl n	96	41	31	24	0,670	0,005*
Median	50,0	50,0	50,0	45,0		
MW±SD	49,1±8,74	51,4±6,56	49,9±7,58	44,4±11,5		
Bereich	8,33-65,0	38,3-65,0	27,5-64,6	8,33-60,1		
Normomorphe Spermatozoen (%)						
Anzahl n	96	41	31	24	0,002*	<0,001*
Median	6,00	7,00	6,00	4,00		
MW±SD	6,71±4,39	9,13±4,74	5,48±3,35	4,17±2,57		
Bereich	0,50-23,1	3,5-23,1	0,5-13,6	0,00-9,50		
DFI (%)						
Anzahl n	79	30	27	22	0,303	0,004*
Median	4,60	3,45	23,5	7,15		
MW±SD	6,70±7,23	4,38±3,84	25,3±8,59	9,82±8,66		
Bereich	1,10-48,5	1,10-16,2	10,0-48,5	1,20-36,5		

* Signifikanz für Vergleiche N vs. P bzw. N vs. A bei $p < 0,025$

Tabelle 10: Korrelationskoeffizienten für den Zusammenhang zwischen Alter, BMI und BU mit Sexualhormonen

	Alter	BMI	BU
LH	ns	ns	ns
FSH	0,26*	ns	ns
Testosteron	-0,33**	-0,58**	-0,58**

* = $p \leq 0,05$ ** = $p \leq 0,01$ ns=nicht signifikant

Bei der Korrelation der anthropometrischen Parameter mit den Parametern des Spermigramms fanden wir negative Korrelationen zwischen dem Alter der Probanden und der progressiven Motilität der Spermien sowie dem Anteil normomorpher Spermatozoen (Tabelle 11). Dieselben Parameter wiesen inverse Zusammenhänge zu BMI und BU auf. Der DFI korrelierte positiv sowohl mit dem BMI als auch mit dem BU.

Tabelle 11: Korrelationskoeffizienten für den Zusammenhang zwischen Alter, BMI und BU mit Spermigrammparameter

	Alter	BMI	BU
Volumen	ns	ns	ns
pH	ns	ns	ns
Konzentration	ns	ns	ns
Spermienanzahl	ns	ns	ns
Progressive Motilität	-0,31**	-0,25*	-0,21*
Normomorphe Spermatozoen	-0,24*	-0,45**	-0,44**
DFI	ns	0,32**	0,34**

* = $p \leq 0,05$ ** = $p \leq 0,01$ ns=nicht signifikant

e) Altersgematchte Ergebnisse

Zum Ausschluss des Alters als Einflussfaktor auf Hormonkonzentrationen und Spermienqualität wurden die altersadjustierten Subgruppen „normalgewichtig“ (N) und „präadipös/adipös“ (P/A), welche präadipöse und adipöse Probanden zusammenfasste, durch Paarbildung von Daten gebildet (Tabelle 12). Dabei wurde ein Altersunterschied von +/-5 Jahre akzeptiert. In den altersgematchten Gruppen wiesen die präadipösen/adipösen Spender signifikant niedrigere Konzentrationen an Testosteron, eine verminderte progressive Motilität und ein niedrigerer Anteil normomorpher Spermatozoen, verglichen mit der normalgewichtigen Subgruppe auf.

Tabelle 12: Anthropometrische Daten, Sexualhormone und Spermogrammparameter der altersgematchten Gruppen

	N	P/A	N	P/A	N	P/A	N vs. P/A
	Anzahl n		MW±SD (ng/mL)		Median (ng/mL)		p-Wert
Alter bei Erstabgabe	22	22	33,2±9,25	33,4±9,10	32,5	32,5	0,948
BMI (kg/m ²)	22	22	22,7±1,73	30,0±4,04	23,1	28,8	<0,001
Bauchumfang (cm)	21	21	85,6±7,27	104±10,5	86,0	103	<0,001
Lutropin (U/L)	19	19	4,04±1,13	4,23±1,35	4,00	4,10	0,637
Follitropin (U/L)	19	19	3,84±1,82	4,39±2,73	3,35	3,60	0,473
Testosteron (nmol/L)	19	19	19,4±4,63	13,9±4,82	19,2	14,0	0,001
Volumen (mL)	22	22	3,26±1,59	2,80±1,34	3,00	2,75	0,301
pH	22	22	7,73±0,24	7,77±0,12	7,71	7,70	0,778
Konzentration (*10 ⁶ /mL)	22	22	90,6±51,6	95,4±83,8	90,8	78,3	0,742
Absolute Anzahl	22	22	302±244	256±238	215	171	0,534
progressive Motilität (a+b%)	22	22	52,3±7,09	47,0±9,99	51,3	46,3	0,046
normomorphe Spermatozoen(%)	22	22	9,94±5,75	4,54±2,89	7,00	3,81	<0,001
DFI (%)	14	14	4,19±4,28	7,02±9,43	2,20	3,50	0,206

4.2 Adipositas und Adipokine

4.2.1 Validierung der Adipokinbestimmung im SP

Die Validierung der Adipokinbestimmung im SP führten wir mit Hilfe eines SP-Pools normalgewichtiger Spender (n=12) durch.

Adiponektin

Innerhalb der Verdünnungsreihen zeigten sich im SP des Pools mittlere Adiponektinkonzentrationen (\pm SD) von $8,34 \pm 0,77$ ng/mL (Tabelle 13). Demgegenüber wurden in der Literatur Serumkonzentrationen von 3,00-30,0 μ g/mL beschrieben (von Eynatten und Hamann 2007). Der optimale Verdünnungsfaktor (VF) für linear vergleichbare Konzentrationen im SP lag damit bei etwa 1:2. Die Sensitivität des Tests wurde vom Hersteller mit 0,6 ng/mL angegeben. Die mittlere Wiederfindung (\pm SD) lag für die Verdünnungen 1:2 bis 1:6 bei $96,6 \pm 10,3$ % (Tabelle 13).

Tabelle 13: Wiederfindung der Adiponektinkonzentrationen nach linearer Verdünnung

VF	Adiponektin Messwert (ng/mL)	Adiponektin Messwert x VF (ng/mL)	Wiederfindung (%)
1:2	4,29	8,57	100
1:3	2,75	8,26	96,3
1:4	1,82	7,28	84,9
1:5	1,63	8,17	95,3
1:6	1,57	9,43	110
MW	2,41	8,34	96,6
SD	1,15	0,77	10,3

Nach Aufstockung des SP Pools (Konzentration 4,10 ng/mL Adiponektin, siehe Tabelle 15) mit 5,00; 15,0; 35,0 und 50,0 ng/mL rekombinanter Adiponektinstandardlösung im Volumenverhältnis 1:2 ermittelten wir eine mittlere Wiederfindung (\pm SD) von $125 \pm 8,23$ % (Tabelle 14).

Bei den durchgeführten Präzisionsmessungen wurde für den Pool nach Korrektur eines Ausreißers ein Intra-Assay Variationskoeffizient (n=6) von 8,62 % berechnet (Tabelle 15).

Tabelle 14: Wiederfindung der Adiponektinkonzentrationen nach Aufstockung des optimal verdünnten Seminalplasmas (1:2) mit verschiedenen Standardkonzentrationen

Adiponektin Standardkonzentration	Messwert (ng/mL)	Targetwert (ng/mL)	Wiederfindung (%)
5 ng/mL	9,45	7,05	134
15 ng/mL	19,5	17,1	115
35 ng/mL	46,0	37,1	124
50 ng/mL	67,0	52,1	129
MW	35,5	28,3	125
SD	26,0	20,2	8,23

Tabelle 15: Präzision der Adiponektinkonzentration bei optimalem VF 1:2

	Messwerte (ng/mL)	MW (ng/mL)	SD (ng/mL)	MW x VF (ng/mL)	CV (%)
Adiponektin (VF1:2)	4,66	4,10	0,35	8,20	8,62
	4,13				
	3,77				
	4,13				
	3,82				
	2,46*				

* als Ausreißer nach der Dixon-Regel bei Berechnung des MW, SD und CV nicht berücksichtigt

Leptin

Für Leptin zeigten sich innerhalb der Verdünnungsreihen im SP des Pools mittlere Konzentrationen (\pm SD) von $0,52 \pm 0,04$ ng/mL (Tabelle 16). Für einem BMI von 20-25 kg/m² wurden in der Literatur Referenzwerte für die humane Serumkonzentrationen zwischen 0,22 und 15,1 ng/mL beschrieben (Mediagnost GmbH Reutlingen 2005). Der optimale Verdünnungsfaktor für linear vergleichbare Konzentrationen im SP lag bei etwa 1:4. Die Sensitivitätsgrenze des Tests wurde vom Hersteller mit 0,01 ng/mL angegeben. Die mittlere Wiederfindung (\pm SD) lag für die Verdünnungen 1:2 bis 1:8 bei $102 \pm 11,1$ % (Tabelle 16). Die Messwerte nach der Verdünnung 1:16 bzw. 1:32 zeigten aufgrund ihrer Nähe zur Nachweisgrenze des Assays eine hohe Varianz und wurden deshalb für die Ermittlung des Mittelwerts und der Wiederfindung nicht berücksichtigt.

Tabelle 16: Wiederfindung der Leptinkonzentrationen nach linearer Verdünnung

VF	Leptin Messwert (ng/mL)	Leptin Messwert x VF (ng/mL)	Wiederfindung (%)
1:2	0,26	0,51	100
1:4	0,12	0,48	94,1
1:8	0,07	0,56	110
1:16	0,05	0,80	157
1:32	0,06	1,76	345
MW	0,15*	0,52*	102*
SD	0,10*	0,04*	11,1*

* ohne Verdünnung 1/16 und 1/32

Wie Tabelle 17 darstellt lag die mittlere Wiederfindung (\pm SD) nach Aufstockung des SP Pools (Konzentration 0,17 ng/mL Leptin, siehe Tabelle 18) mit 0,25; 0,50; 1,00; 2,00 und 4,00 ng/mL rekombinanter Leptinstandardlösung im Volumenverhältnis 1:2 bei $82,2 \pm 8,48$ %.

Bei den durchgeführten Präzisionsmessungen wurde für den Pool ein Intra-Assay Variationskoeffizient (n=6) von 11,5 % berechnet (Tabelle 18).

Tabelle 17: Wiederfindung der Leptinkonzentrationen nach Aufstockung des optimal verdünnten Seminalplasmas (1:4) mit verschiedenen Standardkonzentrationen

Leptin Standardkonzentration	Messwert (ng/mL)	Targetwert (ng/mL)	Wiederfindung (%)
0,25 ng/mL	0,29	0,33	85
0,50 ng/mL	0,52	0,58	88
1,00 ng/mL	0,95	1,08	87,2
2,00 ng/mL	1,73	2,08	82,8
4,00 ng/mL	2,76	4,08	67,5
MW	1,25	1,63	82,2
SD	1,01	1,5	8,48

Tabelle 18: Präzision der Leptinkonzentration bei optimalem VF 1:4

	Messwert (ng/mL)	MW (ng/mL)	SD (ng/mL)	MW x VF (ng/mL)	CV (%)
Leptin (VF 1:4)	0,14	0,17	0,02	0,67	11,5
	0,18				
	0,18				
	0,19				
	0,15				
	0,17				
	0,17				

Resistin

Innerhalb der Verdünnungsreihen zeigten sich im SP des Pools mittlere Resistinkonzentrationen (\pm SD) von $2,03 \pm 0,22$ ng/mL (Tabelle 19). Demgegenüber wurden

in der Literatur Serumresistinkonzentrationen von 2,50-26,9 ng/mL beschrieben (Mediagnost GmbH Reutlingen 2007). Der optimale Verdünnungsfaktor für linear vergleichbare Konzentrationen im SP lag damit bei etwa 1:20. Die Sensitivität des Tests wurde vom Hersteller mit 0,006 ng/mL angegeben. Die mittlere Wiederfindung (\pm SD) lag für die Verdünnungen 1:2 bis 1:20 bei $116 \pm 11,1$ % (Tabelle 19).

Tabelle 19: Wiederfindung der Resistinkonzentrationen nach linearer Verdünnung

VF	Resistin Messwert (ng/mL)	Resistin Messwert x VF (ng/mL)	Wiederfindung (%)
1:2	0,90	1,80	100
1:4	0,48	1,90	106
1:8	0,25	1,97	110
1:16	0,13	2,15	120
1:20	0,12	2,35	130
MW	0,37	2,03	116
SD	0,33	0,22	11,1

Nach Aufstockung des SP Pools (Konzentration 0,11 ng/mL Resistin, siehe Tabelle 21) mit 0,01; 0,05; 0,15; 0,3 und 0,5 ng/mL rekombinanter Resistinstandardlösung im Volumenverhältnis 1:2 ermittelten wir eine mittlere Wiederfindung (\pm SD) von $98,5 \pm 7,12$ % (Tabelle 20).

Bei den durchgeführten Präzisionsmessungen wurde für den Pool ein Intra-Assay Variationskoeffizient (n=6) von 2,89 % berechnet (Tabelle 21).

Tabelle 20: Wiederfindung der Resistinkonzentrationen nach Aufstockung des optimal verdünnten Seminalplasmas (1:20) mit verschiedenen Standardkonzentrationen

Resistin Standardkonzentration	Messwert (ng/mL)	Targetwert (ng/mL)	Wiederfindung (%)
0,01 ng/mL	0,08	0,08	93,6
0,05 ng/mL	0,11	0,12	90,2
0,15 ng/mL	0,22	0,22	98,6
0,3 ng/mL	0,38	0,37	101
0,5 ng/mL	0,62	0,57	109
MW	0,28	0,28	98,5
SD	0,22	0,20	7,12

Tabelle 21: Präzision der Resistinkonzentration bei optimalem VF 1:20

	Messwert (ng/mL)	MW (ng/mL)	SD (ng/mL)	MW x VF (ng/mL)	CV (%)
Resistin (VF 1:20)	0,11	0,11	0,003	2,22	2,89
	0,12				
	0,11				
	0,11				
	0,11				
	0,11				

Chemerin

Für Chemerin zeigten sich innerhalb der Verdünnungsreihen im SP des Pools mittlere Konzentrationen (\pm SD) von $91,7 \pm 15,5$ ng/mL (Tabelle 22). Im Serum gesunder männlicher Erwachsener wurden in der Literatur hingegen Erwartungswerte der Chemerinkonzentration von 80,0-155 ng/mL (Mediagnost GmbH Reutlingen 2010b) beschrieben. Der optimale Verdünnungsfaktor für linear vergleichbare Konzentrationen im SP lag bei etwa 1:800. Die Sensitivitätsgrenze des Tests wurde vom Hersteller mit 0,005 ng/mL angegeben. Die mittlere Wiederfindung (\pm SD) lag für die Verdünnungen 1:200 bis 1:1600 bei $108 \pm 22,1$ % (Tabelle 22).

Tabelle 22: Wiederfindung der Chemerinkonzentrationen nach linearer Verdünnung im Mittelwert von 2 Experimenten

VF	Chemerin Messwert (ng/mL)	Chemerin Messwert (ng/mL)	Wiederfindung (%)
1:200	0,43	86,9	100
1:400	0,20	78,6	91
1:800	0,11	87,0	101
1:1600	0,07	114	133
MW	0,20	91,7	108
SD	0,16	15,5	22,1

Wie Tabelle 23 darstellt lag die mittlere Wiederfindung (\pm SD) nach Aufstockung des SP Pools (Konzentration 0,12 ng/mL Chemerin, siehe Tabelle 24) mit 0,05; 0,13; 0,20 und 0,30 ng/mL rekombinanter Chemerinstandardlösung im Volumenverhältnis 1:2 bei $106 \pm 5,00$ %.

Bei den durchgeführten Präzisionsmessungen wurde für den Pool ein Intra-Assay Variationskoeffizient (n=6) von 5,47 % berechnet (Tabelle 24).

Tabelle 23: Wiederfindung der Chemerinkonzentrationen nach Aufstockung des optimal verdünnten Seminalplasmas (1:800) mit verschiedenen Standardkonzentrationen

Chemerin Standardkonzentration	Messwert (ng/mL)	Targetwert (ng/mL)	Wiederfindung (%)
0,05 ng/mL	0,11	0,10	113
0,13 ng/mL	0,18	0,18	101
0,20 ng/mL	0,26	0,25	104
0,30 ng/mL	0,37	0,35	107
MW	0,23	0,22	106
SD	0,11	0,11	5,00

Tabelle 24: Präzision der Chemerinkonzentration bei optimalem VF 1:800

	Messwert (ng/mL)	MW (ng/mL)	SD (ng/mL)	MW x VF (ng/mL)	CV (%)
Chemerin (VF 1:800)	0,12	0,12	0,01	95,5	5,47
	0,13				
	0,12				
	0,12				
	0,12				
	0,11				

Vaspin

Innerhalb der Verdünnungsreihen zeigten sich im SP unseres Pools mittlere Vaspinkonzentrationen (\pm SD) von ca. $15,9 \pm 1,00$ ng/mL (Tabelle 25). Demgegenüber wurden in der Literatur Serumkonzentrationen von 0,96-2,42 ng/mL beschrieben (Kadoglou et al. 2011). Der optimale Verdünnungsfaktor für linear vergleichbare Konzentrationen im SP lag damit bei etwa 1:40. Die Sensitivitätsgrenze war vom Hersteller mit 0,012 ng/mL angegeben. Die mittlere Wiederfindung (\pm SD) lag für die Verdünnungen 1:40 und 1:80 bei $113 \pm 5,93$ % (Tabelle 25). Die Messwerte nach der Verdünnung 1:160 bzw. 1:320 zeigten aufgrund ihrer Nähe zur Nachweisgrenze des Assays eine hohe Varianz und wurden deshalb für die Ermittlung des Mittelwerts und der Wiederfindung nicht berücksichtigt.

Tabelle 25: Wiederfindung der Vaspinkonzentrationen nach linearer Verdünnung im Mittelwert von 2 Experimenten

VF	Vaspin Messwert (ng/mL)	Vaspin Messwert x VF (ng/mL)	Wiederfindung (%)
1:20	0,75	15,0	100
1:40	0,40	15,9	109
1:80	0,21	17,0	117
1:160	0,16	26,0	180
1:320	0,10	30,5	201
MW	0,45	15,9	113
SD	0,27	1,00	5,93

* ohne Verdünnung 1/160 und 1/320

Nach Aufstockung des SP Pools (Konzentration 0,34 ng/mL Vaspin, siehe Tabelle 27) mit 0,03; 0,06; 0,13; 0,25 und 0,50 ng/mL rekombinanter Vaspinstandardlösung im Volumenverhältnis 1:2 ermittelten wir eine mittlere Wiederfindung (\pm SD) von $101 \pm 15,2$ % (Tabelle 26).

Bei den durchgeführten Präzisionsmessungen wurde für den Pool ein Intra-Assay Variationskoeffizient (n=6) von 9,49 % berechnet (Tabelle 27).

Tabelle 26: Wiederfindung der Vaspinkonzentrationen nach Aufstockung des optimal verdünnten Seminalplasmas (1:40) mit verschiedenen Standardkonzentrationen

Vaspin Standardkonzentration	Messwert (ng/mL)	Targetwert (ng/mL)	Wiederfindung (%)
0,03 ng/mL	0,23	0,20	112
0,06 ng/mL	0,28	0,23	119
0,13ng/mL	0,28	0,29	96,3
0,25 ng/mL	0,40	0,42	96,0
0,50 ng/mL	0,54	0,67	80,2
MW	0,35	0,36	101
SD	0,13	0,2	15,2

Tabelle 27: Präzision der Vaspinkonzentration bei optimalem VF 1:40

	Messwert (ng/mL)	MW (ng/mL)	SD (ng/mL)	MW x VF (ng/mL)	CV (%)
Vaspin (VF 1:40)	0,38	0,34	0,03	13,6	9,49
	0,38				
	0,33				
	0,31				
	0,34				
	0,31				

Visfatin

Für Visfatin zeigten sich innerhalb der Verdünnungsreihen im SP des Pools mittlere Konzentrationen (\pm SD) von $286 \pm 23,0$ ng/mL (Tabelle 28). Für Serum wurden in der Literatur hingegen Visfatinkonzentrationen (\pm SD) von $1,68$ ng/mL \pm $1,86$ ng/mL beschrieben (Korner et al. 2007). Der optimale Verdünnungsfaktor für linear vergleichbare Konzentrationen im SP lag damit bei etwa 1:400. Die Sensitivitätsgrenze des Tests wurde vom Hersteller mit $0,03$ ng/mL angegeben. Die mittlere Wiederfindung (\pm SD) lag für die Verdünnungen 1:32 bis 1:800 bei $107 \pm 8,95$ % (Tabelle 28).

Tabelle 28: Wiederfindung der Visfatinkonzentrationen nach linearer Verdünnung

VF	Visfatin Messwert (ng/mL)	Visfatin Messwert x VF (ng/mL)	Wiederfindung (%)
1:32	8,48	271	100
1:50	5,11	256	94
1:100	3,14	314	116
1:200	1,51	301	111
1:400	0,76	304	112
1:800	0,34	273	101
MW	3,22	286	107
SD	3,12	23,0	8,95

Wie Tabelle 29 darstellt lag die mittlere Wiederfindung (\pm SD) nach Aufstockung des SP Pools (Konzentration $0,34$ ng/mL Visfatin, siehe Tabelle 30) mit $0,06$; $0,13$; $0,25$; $0,50$; $1,00$;

2,00 und 4,00 ng/mL rekombinanter Visfatinstandlösung im Volumenverhältnis 1:2 bei $96,4 \pm 14,6$ %.

Bei den durchgeführten Präzisionsmessungen wurde für den Pool ein Intra-Assay Variationskoeffizient (n=6) von 3,81 % berechnet (Tabelle 30).

Tabelle 29: Wiederfindung der Visfatinkonzentrationen nach Aufstockung des optimal verdünnten Seminalplasmas (1:400) mit verschiedenen Standardkonzentrationen

Visfatin Standardkonzentration	Messwert (ng/mL)	Targetwert (ng/mL)	Wiederfindung (%)
0,06 ng/mL	0,21	0,29	73,3
0,13 ng/mL	0,33	0,35	95,6
0,25 ng/mL	0,58	0,47	123
0,50 ng/mL	0,66	0,72	91,6
1,00 ng/mL	1,21	1,22	98,6
2,00 ng/mL	2,17	2,21	98,0
4,00 ng/mL	4,10	4,33	94,7
MW	1,32	1,37	96,4
SD	1,39	1,47	14,6

Tabelle 30: Präzision der Visfatinkonzentration bei optimalem VF 1:400

	Messwert (ng/mL)	MW (ng/mL)	SD (ng/mL)	MW x VF (ng/mL)	CV (%)
Visfatin (VF 1:400)	0,33	0,34	0,01	137	3,81
	0,34				
	0,34				
	0,33				
	0,35				
	0,37				

Progranulin

Innerhalb der Verdünnungsreihen zeigten sich im SP unseres Pools mittlere Progranulinkonzentrationen (\pm SD) von ca. 1204 ± 148 ng/mL (Tabelle 31). Demgegenüber wurden in der Literatur bei gesunden männlichen Erwachsenen Progranulinserumkonzentrationen von 22,3-53,2 ng/mL beschrieben (Mediagnost GmbH Reutlingen 2010a). Der optimale Verdünnungsfaktor für linear vergleichbare Konzentrationen im SP lag damit bei etwa 1:2000. Die Sensitivitätsgrenze war vom Hersteller mit 0,018 ng/mL angegeben. Die mittlere Wiederfindung (\pm SD) lag für die Verdünnungen 1:1000 bis 1:16000 bei $116 \pm 13,7$ % (Tabelle 31).

Tabelle 31: Wiederfindung der Progranulinkonzentrationen nach linearer Verdünnung

VF	Progranulin Messwert (ng/mL)	Progranulin Messwert x VF (ng/mL)	Wiederfindung (%)
1:1000	1,06	1063	100
1:2000	0,67	1334	125
1:4000	0,32	1264	119
1:8000	0,17	1330	125
1:16000	0,06	1026	96,5
MW	0,46	1204	116
SD	0,41	148	13,7

Nach Aufstockung des SP Pools (Konzentration 0,54 ng/mL Progranulin, siehe Tabelle 33) mit 0,04; 0,13; 0,38; 0,75 und 1,25 ng/mL rekombinanter Progranulinstandardlösung im Volumenverhältnis 1:2 ermittelten wir eine mittlere Wiederfindung (\pm SD) von $105 \pm 10,9$ % (Tabelle 32).

Bei den durchgeführten Präzisionsmessungen wurde für den Pool ein Intra-Assay Variationskoeffizient (n=6) von 9,23 % berechnet (Tabelle 33).

Tabelle 32: Wiederfindung der Progranulinkonzentrationen nach Aufstockung des optimal verdünnten Seminalplasmas (1:2000) mit verschiedenen Standardkonzentrationen

Progranulin Standardkonzentration	Messwert (ng/mL)	Targetwert (ng/mL)	Wiederfindung (%)
0,04 ng/mL	0,35	0,39	91,8
0,13 ng/mL	0,49	0,47	103
0,38 ng/mL	0,70	0,72	97,3
0,75 ng/mL	1,26	1,10	114
1,25 ng/mL	1,87	1,60	117
MW	0,94	0,86	105
SD	0,63	0,50	10,9

Tabelle 33: Präzision der Progranulinkonzentration bei optimalem VF 1:2000

	Messwert (ng/mL)	MW (ng/mL)	SD (ng/mL)	MW x VF (ng/mL)	CV (%)
Progranulin (VF 1:2000)	0,49	0,54	0,05	1079	9,23
	0,50				
	0,51				
	0,54				
	0,59				
	0,61				

4.2.2 Zusammenhang zwischen BMI und Adipokinkonzentration im Serum und im Seminalplasma

Der Vergleich der Adipokinkonzentrationen bei normalgewichtigen, präadipösen und adipösen Spendern erfolgte mit Hilfe des Mann Whitney U-Test. Korrelationsanalysen wurden mit dem Test nach Spearman durchgeführt.

a) Vergleich der Adipokinkonzentrationen im Serum bei normalgewichtigen, präadipösen und adipösen Spendern

Die Unterschiede in den Adipokinkonzentrationen im Serum zwischen normalgewichtigen, präadipösen und adipösen Probanden demonstriert Tabelle 34. Die mediane Konzentration an Adiponektin erwies sich im Serum der Normalgewichtigen mit 4,82 µg/mL signifikant höher, als bei präadipösen (Median=3,94 µg/mL) und adipösen (Median=3,84 µg/mL) Spendern. Die mediane Leptinkonzentration war hingegen bei der normalgewichtigen Gruppe mit 1,65 ng/mL signifikant niedriger als bei den anderen beiden Gruppen. Einen weiteren signifikanten Unterschied konnten wir für die Chemerinkonzentration zwischen Normalgewichtigen (Median=97,9 ng/mL) und Adipösen (Median=121 ng/mL) nachweisen.

b) Vergleich der Adipokinkonzentrationen im Seminalplasma bei normalgewichtigen, präadipösen und adipösen Spendern

Die Adipokinkonzentrationen im SP der 3 Probanden-Gruppen stellt Tabelle 35 dar. Im SP konnten wir lediglich einen signifikanten Unterschied in der Progranulin-Konzentration zwischen der normalgewichtigen und adipösen Gruppe feststellen. Dabei zeigte sich die Progranulinkonzentration der normalgewichtigen Männer mit einem Median von 1711 ng/mL signifikant höher als die der Adipösen (Median=1119 ng/mL).

c) Abhängigkeit der Adipokinkonzentration von anthropometrischen Parametern

In einem weiteren Schritt untersuchten wir, ob es potentielle Zusammenhänge zwischen den Parametern Alter, BMI und BU mit der Adipokinkonzentration gab (Tabelle 36). Bei der Korrelation der Adipokine im Serum mit dem Alter der Probanden zeichnete sich ein positiver Zusammenhang zwischen Alter und der Konzentration an Chemerin und Leptin ab. Im SP korrelierte hingegen neben Leptin auch Adiponektin und Resistin mit dem Alter.

Zum BMI und BU stand im Serum Chemerin und Leptin in positiver Wechselwirkung, während Adiponektin negativ korrelierte. Demgegenüber zeigten sich im SP direkte Zusammenhänge der Parameter BMI und BU zur Resistinkonzentration und indirekte zur Konzentration an Progranulin. Die Adipokine Vaspin und Visfatin korrelierten mit keinem der drei Parameter Alter, BMI und BU.

Tabelle 34: Adipokinkonzentrationen im Serum der normalgewichtigen (N), präadipösen (P) und adipösen (A) Probanden-Gruppe

Serum	gesamt	N	P	A	p-Wert (N vs. P)	p-Wert (N vs. A)
Adiponektin (µg/mL)						
Anzahl n	95	41	31	23	0,022*	0,014*
Median	4,46	4,82	3,94	3,84		
MW±SD	4,97±2,29	5,74±2,48	4,51±2,02	4,23±1,90		
Bereich	0,81-11,8	1,27-11,8	0,81-9,04	0,81-7,73		
Leptin (ng/mL)						
Anzahl n	95	41	30	24	<0,001*	<0,001*
Median	3,97	1,65	4,74	10,2		
MW±SD	5,96±6,15	2,36±2,08	5,48±4,26	12,7±7,31		
Bereich	0,03-25,9	0,30-9,70	0,03-19,3	3,78-25,9		
Resistin (ng/mL)						
Anzahl n	96	41	31	24	0,337	0,940
Median	5,65	5,49	6,52	5,30		
MW±SD	6,65±3,44	6,18±2,55	7,24±4,00	6,68±3,98		
Bereich	2,51-21,2	2,64-12,7	2,55-21,2	2,51-17,2		
Chemerin (ng/mL)						
Anzahl n	96	41	31	24	0,164	<0,001*
Median	104	97,9	102	121		
MW±SD	107±28,9	98,8±	106±26,3	124±24,7		
Bereich	55,3-193	55,3-193	63,2-174	77,3-163		
Vaspin (ng/mL)						
Anzahl n	96	41	31	24	0,856	0,559
Median	0,31	0,31	0,28	0,40		
MW±SD	0,51±0,62	0,49±0,55	0,43±0,43	0,66±0,88		
Bereich	0,04-4,08	0,04-2,96	0,05-2,27	0,07-4,08		
Visfatin (ng/mL)						
Anzahl n	94	39	31	24	0,554	0,445
Median	1,68	1,66	2,19	1,67		
MW±SD	6,23±14,5	4,17±8,90	6,43±14,0	9,31±21,1		
Bereich	0,05-97,1	0,15-41,4	0,05-67,7	0,33-97,1		
Progranulin (ng/mL)						
Anzahl n	96	41	31	24	0,147	0,629
Median	31,5	32,0	30,0	30,7		
MW±SD	32,0±6,77	32,7±6,03	31,1±7,41	32,0±7,24		
Bereich	18,9-54,2	21,6-54,2	21,6-48,9	18,9-48,7		

* Signifikanz für Vergleiche N vs. P bzw. N vs. A bei $p < 0,025$

Tabelle 35: Adipokinkonzentrationen im SP der normalgewichtigen (N), präadipösen (P) und adipösen (A) Probanden-Gruppe

Seminalplasma	gesamt	N	P	A	p-Wert (N vs. P)	p-Wert (N vs. A)
Adiponektin (µg/mL)						
Anzahl n	95	41	31	23	0,662	0,484
Median	0,01	0,01	0,01	0,01		
MW±SD	0,02±0,01	0,02±0,01	0,02±0,01	0,01±0,01		
Bereich	0,003-0,07	0,003-0,07	0,004-0,06	0,004-0,03		
Leptin (ng/mL)						
Anzahl n	95	41	30	24	0,503	0,545
Median	0,76	0,80	0,74	0,76		
MW±SD	0,87±0,57	0,91±0,53	0,77±0,25	0,90±0,87		
Bereich	0,04-4,76	0,24-2,60	0,36-1,44	0,04-4,76		
Resistin (ng/mL)						
Anzahl n	96	41	31	24	0,230	0,073
Median	3,63	2,60	5,38	5,89		
MW±SD	12,7±28,0	13,8±34,6	14,4±28,7	8,77±8,52		
Bereich	0,16-194	0,17-194	0,16-149	0,31-30,8		
Chemerin (ng/mL)						
Anzahl n	96	41	31	24	0,152	0,262
Median	65,7	60,9	79,2	70,2		
MW±SD	101±158	75,1±49,3	145±265	88,4±61,8		
Bereich	16,0-1481	18,3-262	18,3-1481	16,0-258		
Vaspin (ng/mL)						
Anzahl n	96	41	31	24	0,750	0,957
Median	1,21	1,36	1,22	1,07		
MW±SD	6,36±21,2	5,14±17,3	3,79±5,02	11,8±35,6		
Bereich	0,01-171	0,01-111	0,20-18,5	0,01-171		
Visfatin (ng/mL)						
Anzahl n	94	39	31	24	0,185	0,392
Median	135	146	122	126		
MW±SD	195±167	216±188	186±179	173±107		
Bereich	43,9-946	45,2-946	43,9-894	54,4-400		
Progranulin (ng/mL)						
Anzahl n	96	41	31	24	0,253	0,002*
Median	1451	1711	1451	1119		
MW±SD	1553±635	1738±675	1566±578	1220±511		
Bereich	359-3243	359-3243	597-3114	652-2683		

* Signifikanz für Vergleiche N vs. P bzw. N vs. A bei $p < 0,025$

Tabelle 36: Korrelationskoeffizienten für den Zusammenhang zwischen Adipokinkonzentrationen im Serum/SP mit den Parametern Alter, BMI und BU

	Serum/Seminalplasma						
	Adiponektin	Leptin	Resistin	Chemerin	Vaspin	Visfatin	Progranulin
Alter	ns/0,26*	0,27**/-0,26**	ns/0,48**	0,30**/ns	ns/ns	ns/ns	ns/ns
BMI	-0,30**/ns	0,72**/ns	ns/0,27**	0,40**/ns	ns/ns	ns/ns	ns/-0,28**
BU	-0,35**/ns	0,79**/ns	ns/0,25*	0,42**/ns	ns/ns	ns/ns	ns/-0,35**

* = $p \leq 0,05$ ** = $p \leq 0,01$ ns=nicht signifikant

d) Altersgematchte Ergebnisse

Zum Ausschluss des Alters als Einflussfaktor auf die Adipokinkonzentrationen wurden die altersadjustierte Subgruppen „normalgewichtig“ (N) und „präadipös/adipös“ (P/A), durch Paarbildung von Daten gebildet (Tabelle 37). Adiponektin war im Serum der altersgematchten präadipösen/adipösen Probanden signifikant niedriger, Leptin hingegen signifikant höher als bei den normalgewichtigen Spendern. Während Adiponektin im SP der Präadipösen/Adipösen signifikant erniedrigt war, zeigte sich die Konzentration an Chemerin im SP signifikant erhöht verglichen mit den Normalgewichtigen.

Tabelle 37: Adipokinkonzentrationen bei altersgematchten Gruppen in Serum und SP

	N	P/A	N	P/A	N	P/A	N vs. P/A
	Anzahl n		MW±SD (ng/mL)		Median (ng/mL)		p-Wert
Adiponektin Serum (µg/mL)	22	22	5,73±2,23	3,80±1,60	5,72	3,39	0,002
Leptin Serum (ng/mL)	22	22	2,85±2,61	8,18±6,36	2,23	5,60	<0,001
Resistin Serum (ng/mL)	22	22	6,40±2,77	7,63±5,01	6,03	5,76	0,321
Chemerin Serum (ng/mL)	22	22	108±33,3	118±24,7	105	119	0,100
Vaspin Serum (ng/mL)	22	22	0,57±0,69	0,61±0,90	0,33	0,27	0,860
Visfatin Serum (ng/mL)	21	21	5,79±11,9	8,60±20,9	1,60	2,19	0,443
Progranulin Serum (ng/mL)	22	22	34,3±6,61	32,8±6,80	32,9	31,0	0,474
Adiponektin SP (ng/mL)	22	22	0,02±0,01	0,01±0,01	0,01	0,01	0,036
Leptin SP (ng/mL)	22	22	0,96±0,57	0,75±0,27	0,86	0,74	0,245
Resistin SP (ng/mL)	21	21	10,2±20,6	7,44±10,8	3,09	3,50	0,970
Chemerin SP (ng/mL)	21	21	76,2±59,4	137±127	55,0	90,5	0,021
Vaspin SP (ng/mL)	22	22	2,30±3,79	6,27±11,5	0,98	2,22	0,065
Visfatin im SP (ng/mL)	22	22	173±114	159±98,3	132	134	0,667
Progranulin SP (ng/mL)	22	22	1768±623	1563±663	1728	1411	0,296

4.2.3 Vergleich der Adipokinkonzentrationen in Serum und SP

Beim Vergleich der Adipokinkonzentrationen aller Probanden in Serum und SP kamen wir zu folgenden Ergebnissen:

Bei Adiponektin und Leptin waren die Serumkonzentrationen, wie in Abbildungen 8 und 9 dargestellt, gegenüber den Konzentrationen im SP signifikant erhöht ($p < 0,01$). Bei Adiponektin zeigte sich im Serum eine mediane Konzentration von 4,46 µg/mL, während die Werte im SP bei 0,01 µg/mL lagen. Die Werte schwankten im Serum zwischen 0,81 µg/mL und 11,8 µg/mL und im SP zwischen 0,003 µg/mL und 0,07 µg/mL (Tabelle 38). Ähnlich wie beim Adiponektin war auch beim Leptin die Konzentration im Serum signifikant höher als im SP. Wie in Tabelle 39 ersichtlich, standen beim Leptin einem Medianwert von 3,97 ng/mL im Serum ein Medianwert von 0,76 ng/mL im SP gegenüber. Während die Leptinwerte im Serum zwischen 0,03 ng/mL und 25,9 ng/mL variierten, lagen die Konzentrationen im SP zwischen 0,04 ng/mL und 4,76 ng/mL.

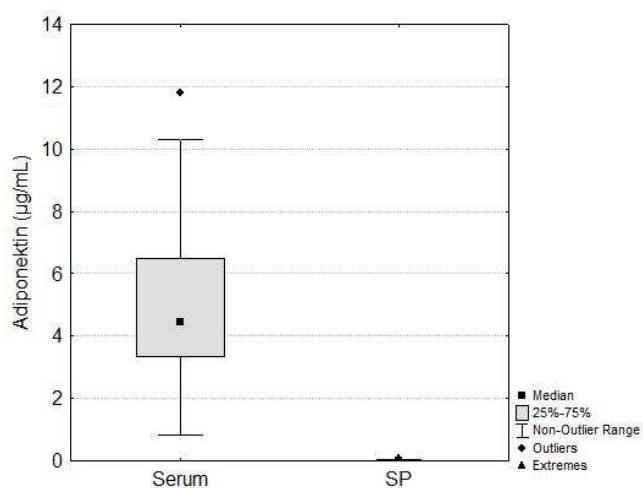


Tabelle 38: Adiponektin in Serum und SP

	Serum	SP
Anzahl n	95	95
Median (µg/mL)	4,46	0,01
MW±SD (µg/mL)	4,97±2,29	0,02±0,01
Bereich (µg/mL)	0,81-11,8	0,003-0,07

Abbildung 8: Vergleich der Adiponektinkonzentration in Serum und SP

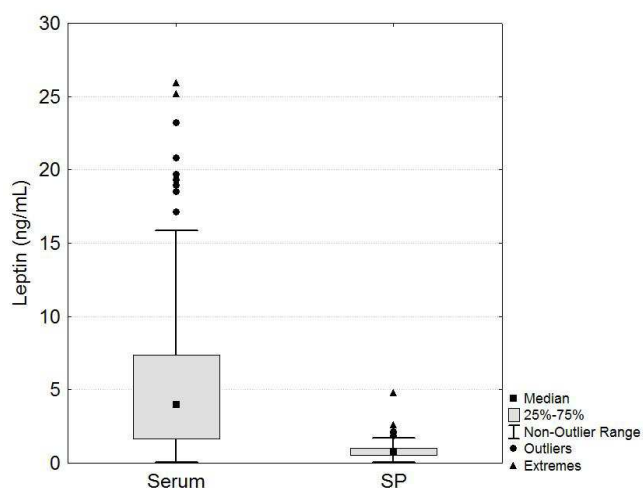


Tabelle 39: Leptin in Serum und SP

	Serum	SP
Anzahl n	95	95
Median (ng/mL)	3,97	0,76
MW±SD (ng/mL)	5,96±6,15	0,87±0,57
Bereich (ng/mL)	0,03-25,9	0,04-4,76

Abbildung 9: Vergleich der Leptinkonzentration in Serum und SP

Auch bei Resistin ($p=0,02$) und Chemerin ($p<0,01$) waren die Serumkonzentrationen signifikant höher als im SP (Abbildungen 10 und 11). Während wir eine Resistinkonzentration von 5,65 ng/mL (Median) im Serum unserer Probanden nachweisen konnten, zeigten sich im SP mediane Konzentrationen von 3,63 ng/mL (Tabelle 40). Dabei schwankten die Werte im Serum zwischen 2,51 ng/mL und 21,2 ng/mL und im SP zwischen 0,16 ng/mL und 194 ng/mL.

Tabelle 31 verdeutlicht, dass die mediane Chemerinkonzentrationen im Serum bei 104 ng/mL lag, die Konzentration im SP hingegen bei 65,07 ng/mL. Die Schwankungsbreite lag im Serum zwischen 55,3 ng/mL und 193 ng/mL und im SP zwischen 16 ng/mL und 1481 ng/mL (Tabelle 41).

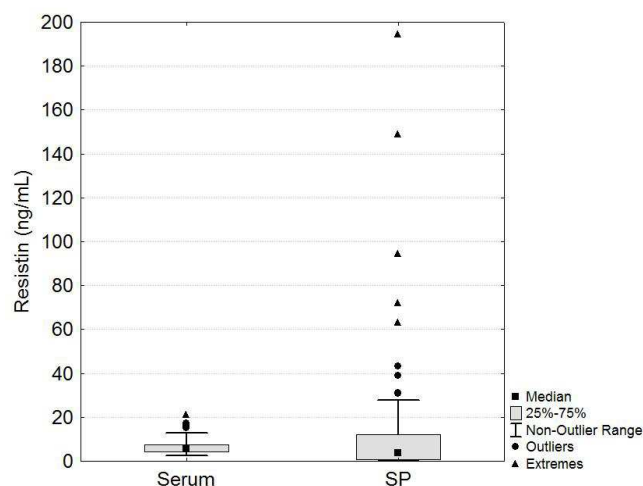


Tabelle 40: Resistin in Serum und SP

	Serum	SP
Anzahl n	96	96
Median (ng/mL)	5,65	3,63
MW±SD (ng/mL)	6,65±3,44	12,7±28,0
Bereich (ng/mL)	2,51-21,2	0,16-194

Abbildung 10: Vergleich der Resistinkonzentration in Serum und SP

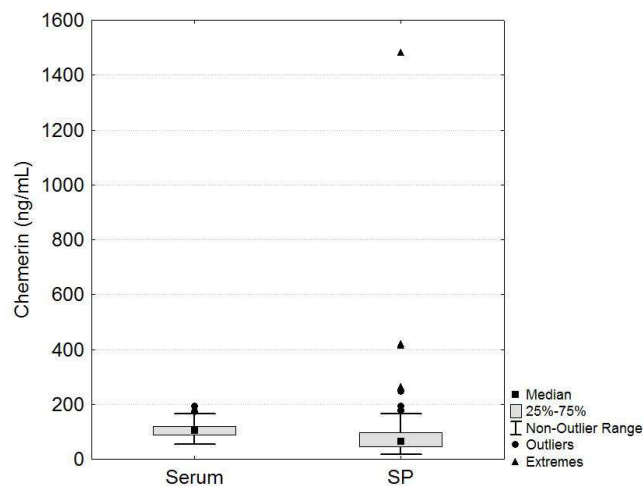


Tabelle 41: Chemerin in Serum und SP

	Serum	SP
Anzahl n	96	96
Median (ng/mL)	104	65,7
MW±SD (ng/mL)	107±28,9	101±158
Bereich (ng/mL)	55,3-193	16,0-1481

Abbildung 11: Vergleich der Chemerinkonzentration in Serum und SP

Beim Vaspin unterschied sich die Konzentration in beiden Probenmatrices signifikant zu Gunsten einer erhöhten Konzentration im SP ($p < 0,01$). Beide Konzentrationen sind in Abbildung 12 und Tabelle 42 dargestellt. Während die mediane Konzentration im SP bei 1,21 ng/mL lag, konnten wir im Serum einen Medianwert von 0,31 ng/mL messen. Die Werte variierten zwischen 0,04 ng/mL und 4,08 ng/mL im Serum und zwischen 0,01 ng/mL und 171 ng/mL im SP.

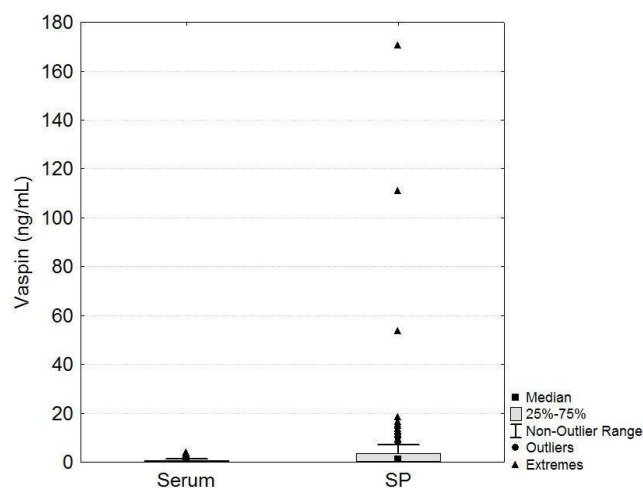


Tabelle 42: Vaspin in Serum und SP

	Serum	SP
Anzahl n	96	96
Median (ng/mL)	0,31	1,21
MW±SD (ng/mL)	0,51±0,62	6,36±21,2
Bereich (ng/mL)	0,04-4,08	0,01-171

Abbildung 12: Vergleich der Vaspinkonzentration in Serum und SP

Bei den Adipokinen Visfatin und Progranulin fanden wir ebenfalls signifikant höhere mediane Konzentrationen im SP verglichen mit dem Serum ($p < 0,01$). Die Ergebnisse beider Messungen zeigen Abbildungen 13 und 14. Die Visfatin-Konzentration im Serum (Medianwert: 1,68 ng/mL) zeigte sich ca. 100-fach kleiner als die im SP (Medianwert: 135 ng/mL). Dabei schwankten die Werte im Serum zwischen 0,05 ng/mL und 97,1 ng/mL und zwischen 43,9 ng/mL und 946 ng/mL im SP (Tabelle 43). Ähnlich hohe Konzentrationsunterschiede konnten wir beim Progranulin nachweisen (Tabelle 44). Dabei lagen die mediane Serumkonzentration von Progranulin bei 31,5 ng/mL und die mediane Konzentration im SP bei 1451 ng/mL. Während die Progranulinwerte im Serum zwischen 18,9 ng/mL und 54,2 ng/mL variierten, lagen die Konzentrationen im SP zwischen 359 ng/mL und 3243 ng/mL.

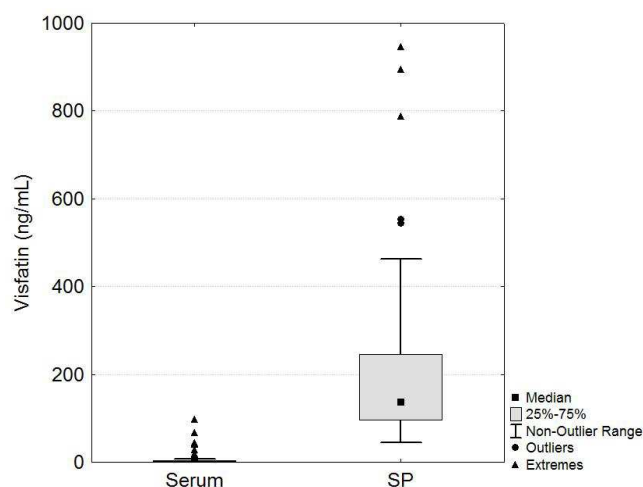


Tabelle 43: Visfatin in Serum und SP

	Serum	SP
Anzahl n	94	94
Median (ng/mL)	1,68	135
MW±SD (ng/mL)	6,23±14,5	195±167
Bereich (ng/mL)	0,05-97,1	43,9-946

Abbildung 13: Vergleich der Visfatinkonzentration in Serum und SP

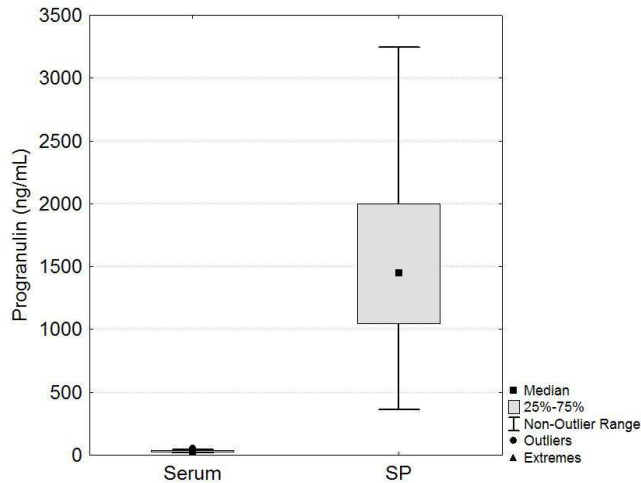


Tabelle 44: Progranulin in Serum und SP

	Serum	SP
Anzahl n	96	96
Median (ng/mL)	31,5	1451
MW±SD (ng/mL)	32,0±6,77	1553±635
Bereich (ng/mL)	18,9-54,2	359-3243

Abbildung 14: Vergleich der Progranulinkonzentration in Serum und SP

Um einen potentiellen Zusammenhang zwischen der Regulation der Adipokine in Serum und SP aufzuklären, berechneten wir die Korrelationen der Konzentrationen in beiden Kompartimenten. Bei der Korrelationsanalyse wurde die Gesamtheit der Daten aller Probanden betrachtet. Dabei korrelierte nur die SP-Konzentration von Adiponektin direkt und signifikant mit der im Serum ($p < 0,01$). Der Zusammenhang zwischen Adiponektin in Serum und SP wird in Abbildung 15 graphisch dargestellt.

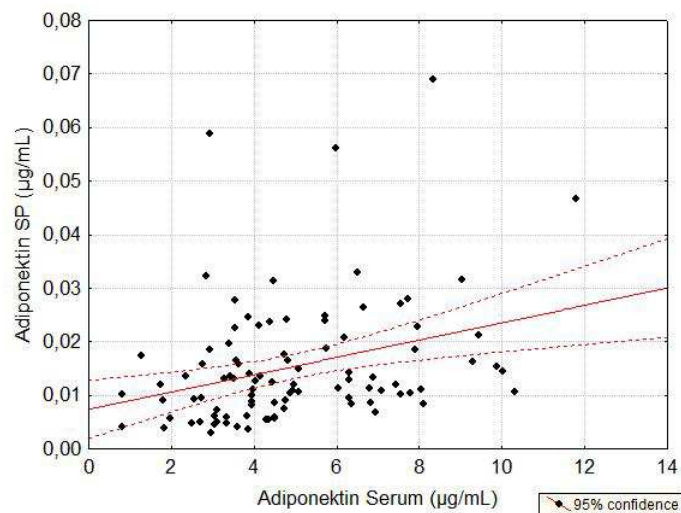


Abbildung 15: Scatterblot Adiponektin im Serum vs. Adiponektin im SP

4.3 Adipokine und männliche Fertilität

4.3.1 Zusammenhang zwischen Adipokinkonzentrationen, Sexualhormonkonzentrationen und Spermioigrammparametern

Um die Wechselwirkungen der Adipokinkonzentrationen mit den Sexualhormonkonzentrationen im Blut und den Spermioigrammparametern zu erfassen, führten wir Korrelationsanalysen (Spearman-Test) durch. Die Korrelationen der Adipokine mit den Sexualhormonen LH, FSH und Testosteron demonstriert Tabelle 45. Dabei zeigte sich für die Konzentration an Adiponektin im Serum ein direkter und für Chemerin bzw. Leptin ein indirekter Zusammenhang mit Testosteron im Blut. Im SP korrelierte hingegen Progranulin sowohl positiv mit Testosteron, als auch invers mit FSH. Für LH ergaben sich keinerlei Assoziationen zu den Adipokinen.

Tabelle 45: Korrelationskoeffizienten für den Zusammenhang zwischen Adipokinen im Serum/SP und Sexualhormonen

	Serum/Seminalplasma						
	Adiponektin	Leptin	Resistin	Chemerin	Vaspin	Vifatin	Progranulin
LH	ns/ns	ns/ns	ns/ns	ns/ns	ns/ns	ns/ns	ns/ns
FSH	ns/ns	ns/ns	ns/ns	ns/ns	ns/ns	ns/ns	ns/-0,21*
Testosteron	0,31**/ns	-0,60**/ns	ns/ns	-0,42**/ns	ns/ns	ns/ns	ns/0,22*

* = $p \leq 0,05$ ** = $p \leq 0,01$ ns=nicht signifikant

Bei Untersuchung des potentiellen Zusammenhangs zwischen Adipokinen im Serum mit den Spermioigrammparametern zeigten sich die in Tabelle 46 dargestellten Ergebnisse. Vaspin wies im Serum eine positive Korrelation mit dem Ejakulatvolumen auf. Serumleptin korrelierte invers mit der Spermienanzahl und dem Anteil normomorpher Spermatozoen.

Im SP konnten wir deutlich mehr Zusammenhänge nachweisen. Vaspin und Leptin wiesen inverse Verbindungen zum Ejakulatvolumen auf. Adiponektin, Chemerin, Leptin und Progranulin korrelierten direkt mit der Spermienkonzentration. Im SP zeigten Adiponektin und Progranulin zudem positive Assoziationen zur Spermienanzahl. Mit der progressiven Motilität korrelierte Chemerin invers, während Leptin und Progranulin positiv mit diesem Parameter korrelierten. Resistin und Visfatin wiesen keine Zusammenhänge mit dem Spermioigramm auf.

Tabelle 46: Korrelationskoeffizienten für den Zusammenhang zwischen Adipokinen im Serum/SP und SpermioGrammparametern

	Serum/Seminalplasma						
	Adiponektin	Leptin	Resistin	Chemerin	Vaspin	Vifatin	Progranulin
Volumen	ns/ns	ns/-0,33**	ns/ns	ns/ns	0,23*/-0,36**	ns/ns	ns/ns
pH	ns/ns	ns/ns	ns/ns	ns/ns	ns/ns	ns/ns	ns/ns
Konzentration	ns/0,27**	ns/0,26*	ns/ns	ns/0,27**	ns/ns	ns/ns	ns/0,24*
Spermienanzahl	ns/0,23*	-0,24*/ns	ns/ns	ns/ns	ns/ns	ns/ns	ns/0,23*
Progressive Motilität	ns/ns	ns/0,27**	ns/ns	ns/-0,25*	ns/ns	ns/ns	ns/0,32**
Normomorphe Spermatozoen	ns/ns	-0,34**/ns	ns/ns	ns/ns	ns/ns	ns/ns	ns/ns
DFI	ns/ns	ns/ns	ns/ns	ns/ns	ns/ns	ns/ns	ns/ns

* = $p \leq 0,05$ ** = $p \leq 0,01$ ns=nicht signifikant

5 Diskussion

Adipositas ist keine Krankheit an sich, sondern bekommt Krankheitswert durch die mit ihr assoziierte Morbidität und Mortalität. Übergewicht geht mit zahlreichen Gesundheitsproblemen einher. Besonders die viszerale Adipositas wurde in epidemiologischen Studien als unabhängiger Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen und Diabetes mellitus identifiziert (Ohlson et al. 1985, Yusuf et al. 2005). Aber auch in verschiedenen anderen Organsystemen erhöht Adipositas das Risiko für pathologische Veränderungen (siehe auch 2.1). Außerdem weisen immer mehr Studien daraufhin, dass Fettleibigkeit mit einer chronischen niedriggradigen Entzündungsreaktion einhergeht, welche an der Entstehung Adipositas-assoziiierter metabolischer Dysfunktion ursächlich beteiligt zu sein scheint (Hotamisligil 2006, Shoelson et al. 2006). So konnte gezeigt werden, dass steigender BMI einen Anstieg des Entzündungsmarkers CRP im Blut nach sich zog (Visser et al. 1999). Aber auch die Hochregulation zahlreiche Adipokine spielt im Rahmen einer chronischen inflammatorischen Aktivierung im Fettgewebe eine wichtige Rolle (Ouchi et al. 2011).

Zusammenhang zwischen BMI und Konzentration an Sexualhormonen sowie SpermioGrammparametern

Die Auswirkungen von Übergewicht und Adipositas auf die männliche Reproduktion sind noch nicht ausreichend verstanden. Als gesichert gilt, dass beide mit Veränderungen des männlichen Hormonprofils einhergehen. In unserer Studie konnte gezeigt werden, dass präadipöse/adipöse Probanden im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant erniedrigte Testosteronkonzentrationen aufwiesen. Dieser Adipositas-assoziierte Hypogonadismus wurde auch in anderen Studien beschrieben (Hammoud et al. 2006). Ursächlich hierfür könnte die periphere Steroidkonversion bei Adipositas sein (siehe auch 2.2). Die Konzentrationen an FSH und LH wiesen in unserer Studie keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen auf. Hammoud et al hatten in einem Review 2006 das Auftreten eines hypogonadotropen Hypogonadismus bei Adipositas beschrieben. Eine im Jahr 2010 veröffentlichte Metaanalyse von 31 Studien kam jedoch zu dem Ergebnisse, dass der Großteil der bisherigen Arbeiten keinen Zusammenhang zwischen BMI und Gonadotropinen nachweisen konnte (MacDonald et al. 2010). Dies würde bedeuten, dass Übergewicht und Adipositas die Funktionalität der Hypothalamisch-Hypophysären Achse nicht verändern.

Bei der Untersuchung des Einflusses von Adipositas auf die SpermioGrammparameter kamen wir zu dem Ergebnis, dass die altersgemachten präadipösen/adipösen Spender einen geringeren Anteil motiler normomorpher Spermatozoen aufwiesen. Zudem war die DNA-Fragmentationsrate bei den Adipösen signifikant höher als bei den normalgewichtigen Spendern. Zahlreiche Studien haben in den letzten Jahren den Einfluss von Adipositas auf

die SpermioGrammparameter untersucht. Die Ergebnisse sind umstritten. Während einige Autoren über inverse Zusammenhänge vom BMI mit Spermienanzahl und Konzentration (Jensen et al. 2004, Koloszar et al. 2005, Magnusdottir et al. 2005, Fejes et al. 2006, Hammoud et al. 2008b), Motilität (Kort et al. 2006, Hammoud et al. 2008b), Morphologie (Hammoud et al. 2008b) und Ejakulatvolumen (Chavarro et al. 2010) berichteten, konnten andere Studien dies nicht bestätigen (Aggerholm et al. 2007, Pauli et al. 2008). Die Metaanalyse von McDonald et al (2010) konnte keinen Zusammenhang zwischen erhöhtem BMI und SpermioGrammparametern feststellen (siehe auch 2.3).

Da unsere normalgewichtigen Probanden signifikant jünger waren, als die beiden anderen Gruppen, mussten wir das Alter als möglichen Einflussfaktor auf die Konzentration an Sexualhormonen und SpermioGrammveränderungen in Betracht ziehen. Die von uns durchgeführten Korrelationsanalysen zwischen anthropometrischen Parametern und Testosteron in der Gesamtgruppe der Probanden ergaben, dass mit zunehmendem Alter, als auch mit steigendem BMI und BU, die Konzentration an Testosteron abnimmt. Dabei schien die Testosteronkonzentration stärker durch den BMI ($R = -0,58$) als durch das Alter ($R = -0,33$) beeinflusst zu sein. Außerdem korrelierte neben BMI und BU auch das Alter negativ mit den Parametern progressive Motilität der Spermien und Anteil normomorpher Spermatozoen. Im Falle der Spermienmotilität war der Zusammenhang zum Alter ($R = -0,31$) höher, als zum BMI ($R = -0,21$). Der Anteil normomorpher Spermatozoen schien hingegen stärker vom BMI ($R = -0,45$) beeinflusst zu sein. Weiterhin führen in unseren Korrelationsanalysen steigender BMI und BU zu einem erhöhten DFI. Daraus lässt sich schließen, dass im hohen Alter die Spermienqualität mit großer Wahrscheinlichkeit vermindert ist. Für unsere Studie bedeutet dies, dass die von uns gemessenen signifikanten Unterschiede im SpermioGramm zwischen Normalgewichtigen und präadipösen/adipösen Probanden ebenfalls auf den großen Altersunterschied zwischen den 3 Gruppen zurückzuführen sein könnten.

Um das Alter als Einflussfaktor auszuschließen und damit unsere Ergebnisse zu präzisieren, bildeten wir alteradjustierte Subgruppen. Beim Vergleich zwischen altersgematchten normalgewichtigen und präadipösen/adipösen Spendern bestätigte sich, dass steigender BMI mit einem niedrigeren Testosteronspiegel und einem niedrigeren Anteil normal-motiler normomorpher Spermatozoen einhergeht. Die Unterschiede zwischen adipösen und normalgewichtigen Männern in der DNA-Fragmentationsrate verschwanden in den altersgematchten Gruppen. Der Zusammenhang könnte in diesem Fall eher altersbedingt sein. Unsere Resultate untermauern die Hypothese, dass Übergewicht und Adipositas die Testosteronspiegel vermindern und die Samenqualität über Veränderungen am Spermium beeinträchtigen können. Dabei kommt es mit großer Wahrscheinlichkeit hauptsächlich zu Störungen der Motilität und Morphologie der Spermien.

Validierung der Adipokine im SP

Das mechanistische Bindeglied zwischen Adipositas und den mit ihr assoziierten Spermogrammveränderungen könnten Sekretionsprodukte des Fettgewebes, sogenannte Adipokine, darstellen. So wurde die Genexpression von zahlreichen Adipokinen bisher im tierischen oder humanen männlichen Keimepithel nachgewiesen (Cioffi et al. 1996, Daniel et al. 2000, Nogueiras et al. 2004, Ocon-Grove et al. 2008, Ocon-Grove et al. 2010). Um deren Konzentration nicht nur im Serum, sondern auch im SP bestimmen zu können, mussten die bisher lediglich im Plasma und Serum erprobten Tests zunächst für das SP validiert werden. Dabei zeigte sich, dass alle von uns untersuchten Adipokine im SP akzeptable Ergebnisse in der Präzision sowie in der Wiederfindung nach Standardaufstockung und linearer Verdünnung der Probenmatrix zeigten.

Zusammenhang zwischen BMI und Adipokinkonzentration in Serum und SP

Welchen Einfluss Adipositas auf die Konzentration an Adipokinen in Serum und SP ausübt, wurde in der nachfolgenden Querschnittsstudie untersucht. Unsere präadipösen und adipösen Spender wiesen gegenüber den normalgewichtigen Probanden signifikant niedrigere Serumkonzentrationen an Adiponektin sowie höhere Leptinkonzentrationen auf. Diese BMI-abhängigen Veränderungen der Serumkonzentration der beiden Adipokine wurden von früheren Studien bestätigt (Houseknecht et al. 1998, Hotta et al. 2000). Zudem konnten wir bei den adipösen Spendern, verglichen mit den normalgewichtigen Männern, erhöhte Chemerinspiegel nachweisen. Geht man davon aus, dass eine vermehrte Ansammlung an Fettgewebe von einer chronischen niedriggradigen Entzündungsreaktion begleitet wird (Hotamisligil 2006, Shoelson et al. 2006), ist der Anstieg des partiell proinflammatorischen Markers Chemerin im Serum nachvollziehbar. Den in der Literatur beschriebenen Adipositas-assoziierte Anstieg der Serumkonzentration von Resistin (Rajala et al. 2004), Vaspin (Youn et al. 2008), Visfatin (Fukuhara et al. 2005) und Progranulin (Youn et al. 2009) konnten wir in unserer Studie nicht bestätigen.

Im humanen SP konnten wir erstmals Progranulin nachweisen und zeigen, dass die SP-Konzentration des Adipokins bei adipösen Probanden verglichen mit den Normalgewichtigen erniedrigt war. Die anderen Adipokine wiesen im SP keine signifikanten Konzentrationsunterschiede zwischen den Gruppen auf.

Aufgrund dessen, dass das Alter auch bei den Adipokinen einen potentiellen Einfluss auf deren Konzentration ausüben kann, führten wir Korrelationsanalysen zwischen anthropometrischen Parametern und Adipokinkonzentration in der Gesamtheit der Probanden durch. Dabei korrelierte das Alter der Probanden von allen untersuchten Adipokinen nur mit der Serumkonzentration an Leptin und Chemerin. Diese Korrelationen zum Alter wurden auch schon in anderen Studien beschrieben (Hofny et al. 2010, Hu und Feng 2010). Beide

Adipokine wurden aber, wie die starke Korrelation zum BMI und BU zeigte, stärker durch den BMI (Leptin $R=0,72$, Chemerin $R=0,40$), als durch das Alter (Leptin $R=0,27$, Chemerin $R=0,30$) beeinflusst. Dies bedeutete, dass die von uns gemessene niedrige Serumkonzentration an Adiponektin und hohe Leptin- und Chemerinserumkonzentration bei den adipösen Spendern höchstwahrscheinlich nicht auf das Alter, sondern auf den hohen BMI zurückzuführen war. Bestätigt wurde dies durch die Ergebnisse bei der Bildung altersadjustierter Subgruppen. Nur Chemerin wies nach dem Altersmatching keine signifikanten Konzentrationsunterschiede zwischen der normalgewichtigen und präadipösen/adipösen Subgruppe mehr auf. Das verstärkte Auftreten von mit chronischer Inflammation assoziierten Erkrankungen im Alter, einschließlich Adipositas, könnte die erhöhte Konzentration des Chemokins im Alter erklären. Der fehlende Zusammenhang könnte aber auch durch die geringe Fallzahl der gematchten Paare bedingt sein.

Im SP korrelierte von allen untersuchten Adipokinen nur die Konzentration von Adiponektin, Leptin und Resistin mit dem Alter der Probanden. Progranulin schien nur durch BMI und BU beeinflusst zu sein. Nach dem Altersmatching zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen normalgewichtigen und präadipösen/adipösen Probanden in den Adiponektin- und Chemerinkonzentration. Wir konnten zeigen, dass im Seminalplasma der altersgematchten präadipösen/adipösen Probanden die Konzentration an Adiponektin signifikant erniedrigt und die an Chemerin statistisch signifikant erhöht war. In der Literatur wurden bisher Adipositas-assoziierte Konzentrationsunterschiede der Adipokine im SP nicht untersucht. Die Unterschiede in den Adiponektin- und Chemerinkonzentration entsprechen aber den in der Literatur beschriebenen mit Adipositas assoziierten Veränderungen der Adipokinkonzentration im Serum (Hotta et al. 2000, Bozaoglu et al. 2007). Der signifikante Unterschied in der Progranulinkonzentration zwischen normalgewichtigen und adipösen Spendern verschwand nach dem Altersmatching der Gruppen und könnte somit, trotz der fehlenden Korrelation des Progranulins zum Alter, durch altersbedingte Pathologien verursacht sein.

Vergleich der Adipokine in Serum und SP und deren Zusammenhang

Vergleiche der Adipokinkonzentrationen zwischen Serum und Seminalplasma sind in der Literatur bisher nicht beschrieben. Um diese Lücke zu schließen und potentielle Regulationsmechanismen der Adipokine im männlichen Reproduktionstrakt zu erfassen, wurden in unserer Querschnittsstudie die Konzentrationen der Adipokine Adiponektin, Leptin, Resistin, Chemerin, Vaspin, Visfatin und Progranulin im Seminalplasma von 96 Probanden bestimmt und mit den korrespondierenden Werten im Serum verglichen. Dabei zeigte sich, dass die mittlere Konzentration von Adiponektin ca. (400-fach), Leptin (5-fach), Resistin (1,5-fach) und Chemerin (1,5-fach) im Serum signifikant ($p<0,05$) höher war, als die im

Seminalplasma. Demgegenüber war bei Vaspin (4-fach), Progranulin (50-fach) und Visfatin (100-fach) die Konzentration im Seminalplasma signifikant erhöht.

Nur einzelne, der von uns untersuchten Adipokine wurden bisher im Seminalplasma, jedoch fast alle im männlichen Reproduktionssystem nachgewiesen. So wurde die Expression von Adiponektin und dessen Rezeptoren im Ratten- und Hahn Hoden beschrieben (Ocon-Grove et al. 2008, Caminos et al. 2008). Im Hahn Hoden konnten Ocon-Grove et al. (2008) testikuläres Adiponektin und AdipoR1 ausschließlich in peritubulären Zellen und Leydig-Zellen nachweisen, während AdipoR2-Immunreaktivität in adluminalen und luminalen Kompartimenten der Tubuli seminiferi und interstitiellen Zellen beobachtet wurde. Besondere AdipoR2-Immunreaktivität zeigten Sertoli-Zell-Synzytien, runde und gestreckte Spermatozoen, Spermatozoen und Leydig-Zellen (Ocon-Grove et al. 2008). Mit Hilfe von RT-PCR und Nukleotidsequenzierung konnte gezeigt werden, dass testikuläres Adiponektin, und die testikuläre mRNA der beiden Rezeptoren identisch sind zu denen im Fettgewebe (Ocon-Grove et al. 2008).

Leptin und dessen Rezeptoren wurden bereits im humanen testikulären Gewebe detektiert (Cioffi et al. 1996). Während die Expression von Leptin in Tubuli seminiferi, Leydigzellen und Keimzellen beobachtet wurde, beschränkte sich die Expression der Leptinrezeptoren auf das Interstitium, vor allem die Leydigzellen. (Glander et al. 2002, Soyupek et al. 2005, Ishikawa et al. 2007). Das Vorhandensein der genannten Rezeptoren auf Spermatozoen wird hingegen kontrovers diskutiert (Jope et al. 2003, Hatami-Baroogh et al. 2010). Während Jope et al (2003) über Leptinrezeptoren auf humanen Spermatozoen sowie die Existenz des sOBR im Seminalplasma berichteten, konnten Hatami-Baroogh et al. (2010) dies nicht bestätigen. Eine weitere Studie beschrieb Leptin-Immunreaktivität in der Äquatorial- und Halsregion von humanen Spermatozoen, sowie die Existenz von ObRs auf dem Spermatozoen-Schwanz (Li et al. 2009). Beim erstmaligen Nachweis von Leptin im SP wurden zwei unterschiedliche Varianten von Leptin aber keine Bindeproteine identifiziert (Camina et al. 2002). Eine amerikanische Arbeitsgruppe konnte im humanen SP Leptinkonzentrationen von 1 ng/mL messen (Lackey et al. 2002).

Resistin wurde mit Hilfe von Immunhistochemie in interstitiellen Leydig-Zellen und in den Tubuli seminiferi von adulten Ratten, genauer den Sertoli-Zellen, detektiert (Nogueiras et al. 2004). Im Seminalplasma korrelierte Resistin mit den Inflammationsmarkern IL-6 und Elastase (Kratzsch et al. 2008).

Während die Genexpression von Chemerin im epididymalen Fettgewebe beschrieben wurde (Bozaoglu et al. 2007), existiert für Verbindung zwischen Vaspin und der männlichen Fertilität bisher keine Evidenz.

Visfatin wurde bei präpubertären Hähnen im Kern von Myoidzellen, Sertoli-Zellen und Leydig-Zellen beschrieben. Demgegenüber wurde Visfatin in adulten Tieren im Zytoplasma

von Leydig-Zellen, Sertoli-Zellen, primären und sekundären Spermatozyten, runden und elongierten Spermatiden, aber nicht in Spermatogonien beobachtet. Außerdem wurde es im Seminalplasma und Spermien-Protein-Extrakt von Hähnen nachgewiesen (Ocon-Grove et al. 2010).

Progranulin konnte in Hoden und Epididymis von adulten Ratten detektiert werden (Daniel et al. 2000). Dabei exprimierten vor allem primäre Spermatogonien und Sertoli-Zellen Progranulin m-RNA. Spermatozyten und Leydigzellen zeigten hingegen eine geringere Expression.

Um die von uns gemessenen Verteilungsunterschiede der Adipokine richtig interpretieren zu können, ist ein Verständnis der Vorgänge an der Blut-Hodenschranke von entscheidender Bedeutung. Für unsere Fragestellung ist besonders die Permeabilität dieser Barriere für Adipokine interessant. Banks et al. haben 1999 die Passage von Leptin über die Blut-Hodenschranke untersucht. Dabei zeigte sich, dass kleine Mengen an aus dem Blut stammenden Leptin in der Lage sind die Blut-Hodenschranke zu durchdringen. Da sich die Kinetik dieses Prozesses als Nicht-Sättigungskinetik erwies, vermutete man das Eindringen von Leptin über Sickervorgänge. Das Fehlen eines sättigbaren Transportmechanismus über die Blut-Hodenschranke trug zu der Hypothese bei, dass Leptin seine Effekte auf die Reproduktion nicht auf der Ebene des Hodens, sondern indirekt, möglicherweise über das ZNS vermittelt (Banks et al. 1999). Welche der von uns untersuchten Adipokine in der Lage sind, die Blut-Hodenschranke zu durchdringen um ihre Wirkungen direkt im Hoden zu entfalten, ist unbekannt. Da Leptin mit 16 kDa, verglichen mit den anderen 6 Adipokinen, eine sehr kleine Masse besitzt, ist die Penetration der anderen Adipokine über die Blut-Hodenschranke fraglich. Die Regulationsmechanismen der Adipokine im männlichen Reproduktionstrakt sind deshalb nur sehr hypothetisch zu interpretieren.

Interessanterweise korrelierte von allen untersuchten Adipokinen nur die Seminalplasmakonzentration von Adiponektin direkt und signifikant mit der im Serum ($p < 0.01$). Dies lässt darauf schließen, dass die Regulation von Adiponektin im SP zu einem gewissen Grade abhängig von der Regulation im Serum zu sein scheint. Deshalb vermuten wir für Adiponektin einen Austausch über die Blut-Hodenschranke, möglicherweise in Form eines aktiven Transportsystems. Die fehlende Korrelation zwischen beiden Körpermedien für alle weiteren gemessenen Adipokine ließ uns schlussfolgern, dass diese Adipokine unabhängig von der Serumkonzentration im männlichen Reproduktionstrakt exprimiert und sekretiert werden. Dabei werden Vaspin, Visfatin und Progranulin in wesentlich höheren Konzentrationen im männlichen Reproduktionstrakt gebildet, als im peripheren Blut. Für Leptin, Chemerin und Resistin, deren Konzentrationen sich im SP deutlich niedriger zeigten als im Serum, kann der Transport über die Blut-Hodenschranke jedoch nicht ausgeschlossen werden.

Als Produktionsorte für Adipokine im männlichen Reproduktionstrakt kämen die Keimzellen, Sertoli-Zellen, Leydig-Zellen oder Endothelzellen und außerhalb des Hodens die akzessorischen Genitaldrüsen (Prostata, Glandula vesiculosa und Glandula bulbourethrales) in Frage. Darüber hinaus existiert in der Literatur Evidenz dafür, dass Spermien dazu in der Lage sind Leptin zu produzieren (Aquila et al. 2005). Ein großer Unterschied der Leptinsekretion zwischen unkapazitierten und kapazitierten Spermien ließen Aquila et al. (2005) eine funktionale Rolle von Leptin auf den Vorgang der Kapazitation vermuten. Zudem ließ sie darauf schließen, dass männliche Gameten dazu in der Lage sind ihren Metabolismus unabhängig von der systemischen Leptinproduktion zu modulieren (Aquila et al. 2005). Die Bildung anderer Adipokine durch männliche Keimzellen wurde bisher nicht beschrieben. Aber auch Sertolizellen sekretieren eine Vielzahl an Proteinen, sowohl testisspezifische, als serumtypische Proteine und können so als mögliche Bildungsorte für Adipokine betrachtet werden (Wright et al. 1981). Um die Produktion von Adipokinen zwischen Hoden und akzessorischen Genitaldrüsen zu differenzieren, können die Ejakulatanalysen von Vasektomie-Patienten hilfreich sein. Beim Vergleich der Leptinkonzentration im SP zwischen Probanden mit und ohne Vasektomie zeigten bisherige Studien keine signifikanten Unterschiede in der Leptinkonzentration (Glander et al. 2002, Camina et al. 2002). Zu ähnlichen Ergebnissen kam eine Studie, die den Einfluss von Vasektomie auf die Konzentration von Resistin im SP untersuchte (Kratzsch et al. 2008). Dies lässt vermuten, dass nicht das testikuläre Gewebe, sondern Prostata und/oder Samenblase für den Großteil der Leptin- und Resistinproduktion verantwortlich sind. Eine multilokuläre Bildung der Adipokine wäre außerdem denkbar.

Zusammenhang zwischen Adipokinen, Sexualhormonen und Spermioigrammparametern

Um letztendlich den statistischen Zusammenhang zwischen Adipokinkonzentrationen und Parametern der männliche Reproduktionsfähigkeit einschätzen zu können, führten wir Korrelationsanalysen mit Sexualhormonen sowie Spermioigrammparametern durch.

Zunächst wurde die Wechselwirkung der Adipokine im Serum mit den Sexualhormonen untersucht. Signifikante Zusammenhänge zeigten die Adipokine im Serum lediglich mit Testosteron. Hohe Spiegel an Testosteron gingen einher mit erhöhten Konzentrationen an Adiponektin und erniedrigten Spiegel an Leptin und Chemerin.

Die Wechselwirkung zwischen Adiponektin und Testosteron im Serum scheint ambivalent zu sein. Auf der einen Seite zeigte sich bei einer Kohorte japanischer Männer mittleren Alters ein direkter Zusammenhang zwischen der niedrigen Testosteronkonzentration im Rahmen eines Metabolischen Syndroms und erniedrigten Spiegel an Adiponektin im Serum (Akishita et al. 2010). Auf der anderen Seite wies eine pädiatrische Studie auf eine inverse Korrelation zwischen pubertärer Entwicklung und der Konzentration an Adiponektin hin (Bottner et al.

2004). Mit zunehmender physischer und körperlicher Entwicklung und dem damit verbundenen Anstieg an Testosteron, sank bei gesunden normalgewichtigen Jungen der Spiegel an Adiponektin ab. Zudem konnte in einer anderen Studie gezeigt werden, dass die Testosteron-Behandlung bei hypogonadalen Typ-2 Diabetikern zur Abnahme an Leptin und Adiponektin führte (Kapoor et al. 2007). Die Resistin-Spiegel wurden durch die Gabe von Testosteron hingegen nicht beeinflusst. Die Abnahme von Leptin und Adiponektin könnte mit den Effekten von Testosteron auf Fettmasse und Körperzusammensetzung erklärt werden. So führte die Testosteron-Gabe über die Verminderung viszeraler Adipositas und Abnahme der Fettmasse zu einer sinkenden Adipokinsekretion aus Adipozyten (Kapoor et al. 2007). Ursache der Ambivalenz sind mit großer Wahrscheinlichkeit die unterschiedlichen Kohorten. Während bei Bottner et al. (2004) der physiologische Abfall von Adiponektin im Rahmen der Pubertät betrachtet wurde, untersuchten die anderen Studien, einschließlich unserer, den Zusammenhang des Adipokins mit den niedrigen Testosteronspiegeln bei erwachsenen und zum Teil hypogonaden Probanden. So sind bei derart verschiedenen Kohorten auch unterschiedliche Wechselwirkungen zwischen Adiponektin und Testosteron denkbar.

Der inverse Zusammenhang zwischen Leptin im Serum und Testosteron wurde schon in verschiedenen Studien thematisiert (Luukkaa et al. 1998, Isidori et al. 1999, Glander et al. 2002). Luukkaa et al (1998) schlussfolgerten, dass Testosteron einen hemmenden Effekt auf die Leptinproduktion ausübt.

Die indirekte Wechselwirkung zwischen Chemerin- und Testosteronkonzentrationen unserer Probanden wurde in der Literatur derzeit noch nicht beschrieben. Lediglich bei einer Gruppe an Frauen mit polyzystischen Ovarialsyndrom und damit erhöhte Androgenspiegel konnten signifikant erhöhte Serumchemerinkonzentration verglichen mit der Kontrollgruppe nachgewiesen werden (Tan et al. 2009).

In einem weiteren Schritt untersuchten wir die Zusammenhänge zwischen Adipokinen im SP und der Konzentration an Sexualhormonen im Serum. Unsere Ergebnisse wiesen dabei lediglich eine positive Korrelation von Progranulin im SP mit Testosteron und eine inverse Korrelation zum FSH auf. Für Assoziationen zwischen Adipokinen im SP und Sexualhormonkonzentration gibt es derzeit in der Literatur wenig Evidenz. Eine Studie berichtete über eine inverse Korrelation zwischen der Leptinkonzentration im männlichen Samen und dem Testosteronspiegel im Serum (von Sobbe et al. 2003). Im Hodengewebe von Ratten hemmten Leptin und Adiponektin die basale und HCG-stimulierte Testosteronsekretion ex vivo (Isidori et al. 1999, Caminos et al. 2008). Zwischen Resistin im SP und den Hormonen FSH, Inhibin B und Testosteron konnten bisher kein signifikanten Zusammenhänge nachgewiesen werden (Kratzsch et al. 2008). Wechselwirkungen zwischen Progranulin im SP und Androgenen wurden bisher nicht untersucht. Eine japanische Arbeitsgruppe konnte im Rattenmodell jedoch zeigen, dass die Progranulin-Genexpression

im neonatalen Hypothalamus durch Steroidhormone induziert wurde und eine entscheidende Rolle bei der funktionellen Maskulinisation des Rattengehirns spielte (Suzuki und Nishihara 2002). Ob diese Ergebnisse auf den Menschen bzw. auf den humanen Reproduktionstrakt übertragbar sind, bleibt fraglich.

In einem nächsten Schritt untersuchten wir den Zusammenhang zwischen Adipokinkonzentrationen im Serum und den Spermogrammparametern. In unserer Studie korrelierte Serumleptin invers mit der Spermienanzahl und dem Anteil normomorpher Spermatozoen. Zudem zeigte Vaspin im Serum eine positive Assoziation zum Ejakulatvolumen.

Der Einfluss von Leptin im peripheren Blut auf das klassische Spermogramm ist in der Literatur umstritten. Einige Autoren konnten keinen Zusammenhang zwischen humaner Leptinkonzentration im Serum und Spermogramm-Parametern nachweisen (Glander et al. 2002, Zorn et al. 2007). In einer anderen Studie verbesserte Leptin *in vitro* die progressive Motilität humaner Spermatozoen (Lampiao und Du Plessis 2008). Demgegenüber führte im Rattenmodell die tägliche intraperitoneale Injektion von Leptin zu einer Abnahme der Spermienanzahl und einem erhöhten Anteil abnormaler Spermien (Haron et al. 2010).

Für den positiven Zusammenhang zwischen Vaspin im Serum und dem Ejakulatvolumen, als auch für Korrelationen der anderen untersuchten Adipokine mit Spermogrammparametern existiert bisher in der Literatur keine Evidenz.

In einem letzten Schritt wurde die Wechselwirkung zwischen Adipokinen im SP und Spermogrammparametern untersucht. Dabei zeigte sich, dass Leptin und Vaspin negativ mit dem Ejakulatvolumen korrelierten. Adiponektin, Leptin, Chemerin und Progranulin wiesen einen direkten Zusammenhang mit der Ejakulatkonzentration auf. Adiponektin und Progranulin zeigten zudem eine positive Assoziation zur Spermienanzahl. Mit der progressiven Motilität korrelierten neben Leptin auch Progranulin direkt und Chemerin indirekt. Der Großteil dieser Zusammenhänge wurde in der Literatur bisher so oder in ähnlicher Form noch nicht beschrieben. Nur die Wirkung von Leptin im Seminalplasma auf das Spermogramm wurde kontrovers diskutiert. Während einige Autoren im SP über eine negative Korrelation zwischen Leptin und dem Anteil motiler Spermatozoen berichteten (Glander et al. 2002), negierten andere diesen Zusammenhang (Li et al. 2009). Laut unserer Ergebnisse der Korrelationsanalyse scheinen vor allem hohe Spiegel an Adiponektin, Leptin und Progranulin im SP mit einer guten Spermienquantität (Konzentration und Spermienanzahl) und –Qualität (Motilität) einherzugehen. Der Zusammenhang zwischen Chemerin und Parametern des Spermogramms scheint ambivalent zu sein. Vaspin, Resistin und Visfatin zeigten hingegen keine Wechselwirkungen mit den drei wichtigsten Spermogrammparametern zur Beurteilung der männlichen Zeugungsfähigkeit Spermienkonzentration, Motilität und Morphologie der Spermien.

Der Mechanismus der potentiellen Adipokinwirkung auf die Spermienqualität ist unbekannt. Möglicherweise führt der direkte Kontakt zwischen Adipokin und Spermium zur Reduktion der motilen normomorpher Spermatozoen. Da wir als Bildungsort der Adipokine, aufgrund der Vasektomie-Versuche (Glander et al. 2002, Kratzsch et al. 2008) die akzessorischen Geschlechtsdrüsen vermuten, käme als Interaktionsort zwischen beiden am ehesten die Urethra in Frage. Für eine direkte Wirkung von Leptin auf Spermien spricht, dass bei der Inkubation humaner Spermatozoen mit Leptin in vitro ein Anstieg der totalen und progressiven Motilität, sowie der Akrosomreaktion und NO-Synthese zu verzeichnen war (Lampiao und Du Plessis 2008). Die Präsenz von Leptinrezeptoren auf der Plasmamembran von Spermatozoen lässt ebenfalls eine direkte Interaktion beider vermuten (Jope et al. 2003). Aber auch eine indirekte Wirkung der Adipokine auf die Spermienqualität über die Hemmung der gonadalen Funktion wäre denkbar. So resultierte zum Beispiel im Rattenmodell die kurzzeitige Inkubation von Leydig-Zellen mit Leptin in einer signifikanten dosisabhängigen Inhibition der hCG-stimulierten Testosteronproduktion und damit einem lokalen Testosteronmangel (Caprio et al. 1999).

Eine wichtige Rolle scheint zudem die mit Adipositas assoziierte chronische niedriggradige Entzündungsreaktion zu spielen (Hotamisligil 2006, Shoelson et al. 2006). Die Hochregulation zahlreicher Adipokine führt bei Fettleibigkeit zur Entstehung einer chronischen Inflammation und trägt zu metabolischer Dysfunktion bei (Ouchi et al. 2011). Adipokine können sowohl pro-, als auch antiinflammatorisch wirken. So stimulierte Leptin die Produktion von TNF und IL-6 durch Monozyten (Santos-Alvarez et al. 1999). Aber auch bei Resistin, Chemerin, Visfatin und Progranulin wurden partiell entzündungsfördernde Wirkungen nachgewiesen (siehe 2.4.). Für Adiponektin konnten hingegen verschiedene antiinflammatorische Wirkungen beschrieben werden. So korrelierte zum Beispiel die Adiponektinkonzentration bei adipösen Patienten und Diabetikern negativ mit dem Entzündungsmarker CRP. Zudem hemmte das Adipokin die Makrophagentransformation zu Schaumzellen, die Expression von TNF- α und die Proliferation glatter Muskelzellen (Ouchi et al. 2003). Eine durch Adipositas verursachte Dysbalance von pro- und antiinflammatorischen Adipokinen könnte auch im männlichen Reproduktionstrakt eine mögliche Ursache für die Beeinträchtigung der Spermienqualität darstellen. In diesem Zusammenhang wären reaktive Sauerstoffspezies (ROS) als Bindeglied zwischen Adipokinen, chronischer Inflammation und Spermienveränderungen vorstellbar. In den letzten Jahren wurde eine Assoziation von Adipositas, als auch von Insulinresistenz und Dyslipidämie mit erhöhtem oxidativen Stress beschrieben (Dandona et al. 2005). Außerdem ist ROS in der Lage die normale Spermienfunktion und –Motilität über die Schädigung des mitochondrialen Genoms und damit der mitochondrialen Energieproduktion von Spermien herabzusetzen (Du Plessis et al. 2010). Eine Verbindung zwischen ROS, Adipositas, Inflammation und

Spermienveränderungen konnte eine australische Studie vor kurzem herstellen. Diese konnte zeigen, dass steigender BMI einhergeht mit erhöhtem oxidativen Stress am Spermium, hauptsächlich bedingt durch Makrophagenaktivierung im Seminalplasma (Tunc et al. 2011). Zusammenhänge zwischen Adipokinen und oxidativem Stress wurden bereits in verschiedenen Studien thematisiert. So konnte nachgewiesen werden, dass Leptin in humanen Endothelzellen oxidativen Stress induziert (Bouloumie et al. 1999). In einer anderen Studie korrelierte Serumleptin direkt und signifikant mit urinärem 8-Iso-Prostaglandin F_{2α}, einem Marker des oxidativen Stresses, bei nichtdiabetischen hypercholesterolemischen Patienten (Shin et al. 2006). Eine chinesische Arbeitsgruppe konnte einen signifikanten negativen Zusammenhang zwischen Adiponektinspiegeln und der Konzentration an 8-Iso-Prostaglandin F_{2α} im Serum von adipösen verglichen mit normalgewichtigen Probanden aufzeigen (Shen et al. 2008). Wechselwirkungen zwischen ROS und Adipokinen im SP sind in der Literatur bisher nicht beschrieben, wären aber aufgrund der zuvor genannten Studien vorstellbar.

Fasst man unsere Ergebnisse zusammen, ging männliche Adipositas in unserer Studie mit erniedrigten Testosteronspiegeln und einer herabgesetzten Motilität und Morphologie der Spermien einher. Die signifikanten Veränderungen der Adipokinkonzentrationen bei präadipösen/adipösen Probanden im Vergleich zu den normalgewichtigen Probanden und deren Zusammenhänge zu Sexualhormonen und Spermigrammparametern sind in Abbildung 16 dargestellt.

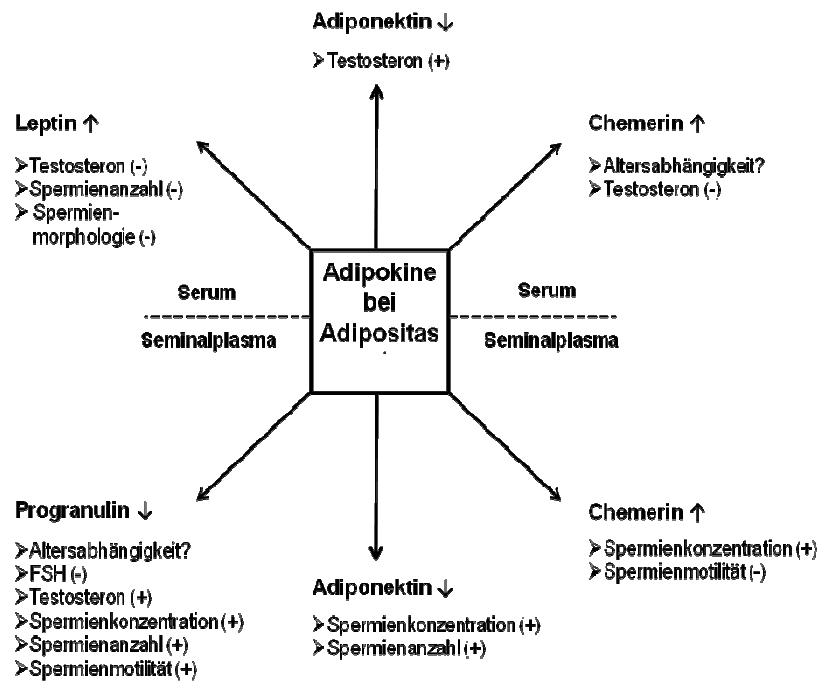


Abbildung 16: Signifikante Veränderungen der Adipokinkonzentrationen bei präadipösen/adipösen Probanden im Vergleich zu normalgewichtigen Probanden und deren Zusammenhänge zu Sexualhormonen und SpermioGrammparametern

Im Serum der präadipösen/adipösen Probanden konnten wir erniedrigte Adiponektinspiegel nachweisen, sowie eine direkte Assoziation zwischen Serumadiponektin und der Testosteronkonzentration. Damit könnte Adiponektin eine Rolle in der Pathogenese des Hypogonadismus bei Adipositas spielen. Eine Korrelation von Serumadiponektin zum SpermioGramm konnte nicht nachgewiesen werden. Die bei den präadipösen/adipösen Probanden gemessenen erhöhten Leptinwerte im Serum spiegeln sich in dem negativen Zusammenhang zwischen Serumleptin und Testosteronspiegeln, Spermienanzahl und -Morphologie wieder. Dies ließ uns vermuten, dass die bei Adipositas beobachteten hohen Spiegel an Serumleptin mit verminderten Androgenspiegeln im Blut als auch einer herabgesetzten Ejakulatqualität einhergehen. Die im Vergleich zu normalgewichtigen Probanden erhöhten Chemerinwerte im Serum der adipösen Probanden passten zur indirekten Assoziation des Serumadipokins zum Testosteron. Der Einfluss des Alters auf die Konzentration an Chemerin musste, aufgrund des Wegfalls dieses Zusammenhangs nach dem Altersmatching, jedoch berücksichtigt werden.

Im SP konnten von uns erniedrigte Adiponektinspiegel und erhöhte Chemerinspiegel bei altersgemachten präadipösen/adipösen Probanden nachgewiesen werden. Die signifikanten Unterschiede in der Progranulinkonzentration zwischen normalgewichtigen und adipösen Spendern verschwanden nach dem Altersmatching. Somit könnten diese durch das Alter und

nicht durch den unterschiedlichen BMI der drei Probandengruppen bedingt sein. Der von uns nachgewiesene direkte und signifikante Zusammenhang zwischen SP- und Serumkonzentration von Adiponektin ließ auf eine vom Serum abhängige Regulation von Adiponektin im SP schließen. Dabei wäre ein Austausch von Adiponektin über die Blut-Hoden-Schranke denkbar. Die positiven Korrelationen der Adiponektin- und Progranulinkonzentration im SP mit den Parametern Spermienkonzentration, Spermienanzahl und Spermienmotilität wiesen auf einen positiven Einfluss beider Adipokine auf die Samenqualität und -Quantität hin.

Die fehlenden Zusammenhänge zwischen Serum- und SP-Konzentration bei Chemerin und Progranulin deuteten hingegen auf eine vom Serum unabhängige Regulation dieser Adipokine im männlichen Reproduktionstrakt hin. Die negative Korrelation von Chemerin im SP mit der Spermienmotilität ließ einen negativen Einfluss dieses Adipokins auf die Spermienbeweglichkeit vermuten. Wissenschaftlich interessant schien die positive Korrelation von Chemerin mit der Spermienkonzentration vor dem Hintergrund der signifikant erhöhten SP-Konzentration des Adipokins bei präadipösen/adipösen Probanden. Eine mit Adipositas assoziierte kompensatorische und protektive Wirkung dieses Adipokins auf die Spermienquantität wäre in diesem Zusammenhang vorstellbar. Da Chemerin in der bisherigen Literatur jedoch überwiegend proinflammatorische Eigenschaften zugesprochen worden sind, bedarf die Aufklärung dieses Zusammenhangs weiterer umfangreicher Untersuchungen.

Als Stärken unserer Studie sind die Vielzahl der untersuchten Adipokine und deren gezielte Auswahl zu nennen. So wurden unter anderen Adipokine gewählt, die nicht ausschließlich im Fettgewebe, sondern auch in anderen Geweben wie Leber, Epithelien, Gehirn Plazenta und Hoden exprimiert werden (siehe auch 2.4.). Zudem ging der Messung der Proben bei allen Kits eine Validierungsphase für die Bestimmung im SP voraus.

Die moderate Fallzahl der Probanden (n=96) und die Altersabhängigkeit einer Großzahl der bestimmten Parameter schränken die Aussagekraft unserer Studie jedoch ein. Studien mit einer größeren Fallzahl sind nötig um unsere Ergebnisse zu bestätigen und zu konkretisieren. Auch der Einfluss anderer Parameter auf die Adipokinkonzentration im Serum und vor allem im SP können nicht ausgeschlossen werden.

Lässt sich der Einfluss der Adipokine auf die Spermienqualität im Zellversuch bzw. durch in-vivo Untersuchungen bestätigen, könnten daraus neue Optionen für die Diagnostik und Behandlung männlicher Infertilität ergeben. Als moderne methodische Ansätze zur quantitativen Bestimmung von stoffwechselaktiven Proteinen in Serum, Spermium und SP kommen in der Zukunft Proteomanalysen (Proteomics) in Frage (Paasch et al. 2011). So könnten Veränderungen des Adipokinprofils schnell und effektiv bestimmt werden.

Therapeutisch wäre eine Normalisierung der Adipokinkonzentrationen sowohl durch Gewichtsreduktion als auch durch eine medikamentöse Therapie denkbar.

Fazit

Unsere Ergebnisse belegen, dass die Adipokine Adiponektin, Leptin, Resistin, Chemerin, Vaspin, Visfatin und Progranulin neben dem Serum auch im SP präsent sind und dort einen möglichen Einfluss auf die Spermienqualität, in Abhängigkeit vom BMI, ausüben. So könnten sie direkt, indirekt über die Hemmung der gonadalen Hormonproduktion oder im Rahmen einer Adipositas-assoziierten chronischen niedriggradigen Inflammation die Spermienfunktionalität beeinträchtigen.

6 Zusammenfassung der Arbeit

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades Dr. med.

Adipositas ist mit verminderter Spermienqualität und veränderten Konzentrationen an Adipokinen in Serum und Seminalplasma assoziiert

eingereicht von

Dorothea Sophia Kratzsch

angefertigt an der Universität Leipzig, Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie, Abt. Andrologie

betreut von Prof. Dr. med. U. Paasch; Universität Leipzig, Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie, Abt. Andrologie

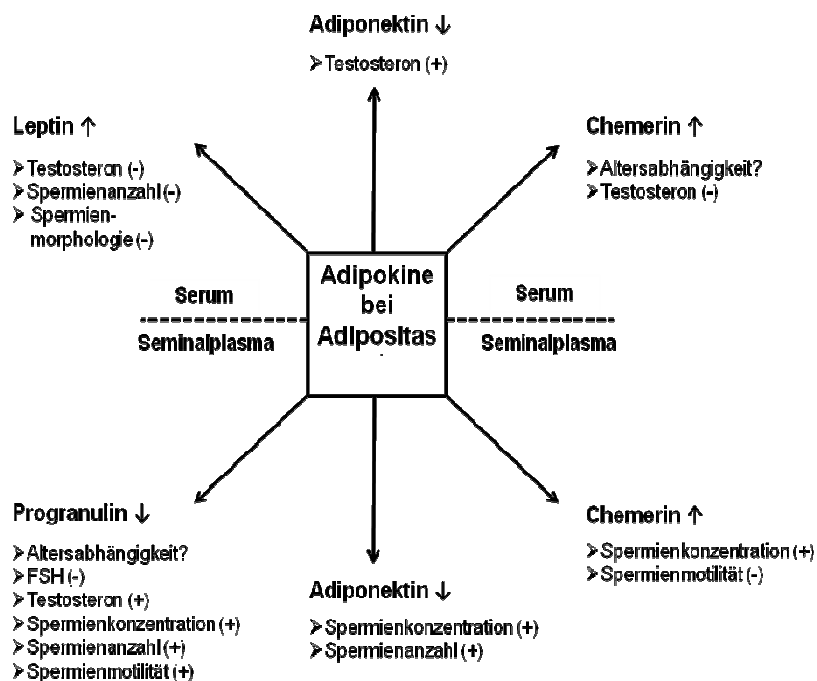
Oktober 2011

Die verschlechterte männliche Spermienqualität scheint eine mögliche Ursache für die steigende Prävalenz der Infertilität in den westlichen Industrienationen zu sein. Derzeit geht man davon aus, dass bei etwa 25-30 % aller Fälle von Infertilität männliche Faktoren allein die entscheidende pathogenetische Rolle spielen. In den letzten Jahren wurden vermehrt inverse Zusammenhänge zwischen der Funktionalität von Spermatozoen und der Zunahme an Fettgewebe im Körper festgestellt, deren molekulare Ursachen weitgehend ungeklärt sind. Sekretionsprodukte des Fettgewebes, sogenannte Adipokine, könnten eine entscheidende Rolle in der Pathogenese Adipositas-assoziiierter Spermienveränderungen spielen. Laut unserer Hypothese könnte eine veränderte Adipokinproduktion die kausale Verbindung zwischen Adipositas und gestörter männlicher Fertilität darstellen. In diesem Zusammenhang sollten folgende Fragestellungen überprüft werden:

- In welchem Maße beeinflusst der Körpermasseindex (BMI) die Serumkonzentrationen an Sexualhormonen, das klassische Spermogramm und die Adipokinkonzentrationen in Serum und Seminalplasma?
- Wie unterscheiden sich die Konzentrationen der Adipokine in Serum und Seminalplasma?
- Welche statistische Zusammenhänge zeigen sich zwischen Adipokinen, Sexualhormonen und Spermogrammparametern?

Dazu wurden in einer Querschnittsstudie Sexualhormonkonzentrationen, Spermogrammparameter und die Konzentration der Adipokine Adiponektin, Leptin, Resistin, Chemerin, Vaspin, Visfatin (Nampt) und Progranulin im Serum von normalgewichtigen, präadipösen und adipösen Probanden bestimmt und in Zusammenhang zu deren BMI gesetzt. Die Serumkonzentration der Adipokine wurde mit den korrespondierenden Werten im Seminalplasma verglichen. Zudem wurden die gemessenen Adipokinspiegel beider Körperflüssigkeiten auf statistische Zusammenhänge mit Sexualhormonen und dem klassischen Spermogramm (WHO) untersucht.

Dabei zeigte sich, dass die altersgemachten präadipösen/adipösen Probanden signifikant weniger progressiv motile und normomorphe Spermatozoen als die Gruppe der normalgewichtigen Probanden aufwiesen ($p < 0.05$). Die Konzentration an Testosteron war in ihrem Serum signifikant niedriger als bei der Gruppe der normalgewichtigen Spender ($p < 0.01$). Die signifikanten Veränderungen der Adipokinkonzentrationen bei präadipösen/adipösen Probanden im Vergleich zu den normalgewichtigen Probanden und deren Zusammenhänge zu Sexualhormonen und Spermogrammparametern sind in der folgenden Abbildung zusammengefasst.



Signifikanten Veränderungen der Adipokinkonzentrationen bei präadipösen/adipösen Probanden im Vergleich zu normalgewichtigen Probanden und deren Zusammenhänge zu Sexualhormonkonzentrationen und Spermogrammparametern

Beim Vergleich der Adipokinkonzentrationen zwischen adipösen und normalgewichtigen Probanden zeigten sich bei den Adipösen die Adiponektinwerte im Serum signifikant vermindert ($p < 0.05$), während die Leptin- und Chemerinwerte statistisch signifikant erhöht

waren (jeweils $p < 0.01$). Im Seminalplasma fand sich die Konzentration an Progranulin bei den adipösen verglichen mit den normalgewichtigen Probanden signifikant erniedrigt ($p < 0.01$). Nach der Bildung altersadjustierter Subgruppen zeigten sich zudem im Seminalplasma der präadipösen/adipösen Probanden signifikant verminderte Adiponektinspiegel, als auch erhöhte Konzentrationen an Chemerin ($p < 0.05$). Die signifikanten Konzentrationsunterschiede zwischen normalgewichtigen und adipösen Probanden von Chemerin im Serum und Progranulin im Seminalplasma verschwanden nach der Adjustierung für das Alter. Beim Vergleich der Adipokinkonzentration zwischen Serum und Seminalplasma konnte nachgewiesen werden, dass die mittleren Konzentrationen von Adiponektin (400-fach), Leptin (5-fach), Resistin (1,5-fach) und Chemerin (1,5-fach) im Serum signifikant höher war, als die im Seminalplasma (jeweils $p < 0.05$). Demgegenüber erwies sich bei Vaspin (4-fach), Visfatin (100-fach) und Progranulin (50-fach) die Konzentration im Seminalplasma signifikant erhöht (jeweils $p < 0.01$). Bei Korrelationsanalysen korrelierte nur die Seminalplasmakonzentration von Adiponektin direkt und signifikant mit der im Serum ($p < 0.01$). Desweiteren zeigten die Leptinspiegel im Serum eine indirekte Korrelation zur Testosteronkonzentration und zur Anzahl normomorpher Spermien im Ejakulat ($p < 0.05$). Die Serumkonzentration an Adiponektin korrelierte positiv, die an Chemerin negativ mit der Testosteronkonzentration (jeweils $p < 0.01$). Die Konzentration an Adiponektin, Chemerin und Progranulin im Seminalplasma wies einen positiven Zusammenhang zur Spermienkonzentration auf, Adiponektin und Progranulin ebenfalls zur Spermienanzahl (jeweils $p < 0.05$). Progranulinspiegel im Seminalplasma korrelierten positiv, die Chemerinkonzentration negativ mit der Spermienmotilität ($p < 0.05$).

Unsere Ergebnisse belegen, dass Adipokine im männlichen Reproduktionstrakt präsent sind. Mit Ausnahme von Adiponektin werden die Adipokine mit hoher Wahrscheinlichkeit unabhängig von der Konzentration im peripheren Blut reguliert. Dies deutet auf eine weitgehend unabhängige Expression und Sekretion der Adipokine im männlichen Reproduktionstrakt hin. Für Adiponektin vermuten wir hingegen einen Austausch über die Blut-Hoden-Schranke. Zudem weisen unsere Ergebnisse erstmals auf einen möglichen Einfluss von Adipokinen auf die Spermienqualität und -Quantität in Abhängigkeit vom Körpergewicht hin. Dabei scheinen im Seminalplasma vor allem Adiponektin und Progranulin einen positiven Einfluss auf die Spermienqualität und -Quantität auszuüben. Adipokine könnten direkt, indirekt über die Hemmung der gonadalen Hormonproduktion oder im Rahmen einer Adipositas-assoziierten chronischen subklinischen Inflammation die Spermienfunktionalität beeinträchtigen. Zur Aufklärung der Pathogenese sowie des genauen Pathomechanismus der Adipokin-Spermium-Interaktion sind weiterführende Zellversuche bzw. in-vivo Untersuchungen notwendig. Ließe sich dadurch die Hypothese eines direkten

Einflusses von Adipokinen auf die Spermienqualität und –Quantität bestätigen, könnten sich daraus neue Optionen für die Diagnostik und Behandlung von männlicher Infertilität ergeben.

7 Literatur

1. Aggerholm,AS, Thulstrup,AM, Toft,G, Ramlau-Hansen,CH, Bonde,JP (2007): Is overweight a risk factor for reduced semen quality and altered serum sex hormone profile? *Fertil.Steril.* 90, 619-626
2. Ahima,RS, Flier,JS (2000): Leptin. *Annu.Rev.Physiol* 62, 413-437.
3. Akishita,M, Fukai,S, Hashimoto,M, Kameyama,Y, Nomura,K, Nakamura,T et al (2010): Association of low testosterone with metabolic syndrome and its components in middle-aged Japanese men. *Hypertens.Res.* 33, 587-591.
4. Alberti,KG, Zimmet,P, Shaw,J (2006): Metabolic syndrome--a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabet.Med* 23, 469-480.
5. Andersson,AM, Skakkebaek,NE (2001): Serum inhibin B levels during male childhood and puberty. *Mol.Cell Endocrinol.* 180, 103-107.
6. Andolz,P, Bielsa,MA, Vila,J (1999): Evolution of semen quality in North-eastern Spain: a study in 22,759 infertile men over a 36 year period. *Hum.Reprod.* 14, 731-735.
7. Aquila,S, Gentile,M, Middea,E, Catalano,S, Morelli,C, Pezzi,V et al (2005): Leptin secretion by human ejaculated spermatozoa. *J Clin Endocrinol.Metab* 90, 4753-4761.
8. Archanco,M, Gomez-Ambrosi,J, Tena-Sempere,M, Fruhbeck,G, Burrell,MA (2007): Expression of leptin and adiponectin in the rat oviduct. *J Histochem.Cytochem.* 55, 1027-1037.
9. Arita,Y, Kihara,S, Ouchi,N, Takahashi,M, Maeda,K, Miyagawa,J et al (1999): Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem.Biophys.Res.Commun.* 257, 79-83.
10. Aroda,V, Ciaraldi,TP, Chang,SA, Dahan,MH, Chang,RJ, Henry,RR (2008): Circulating and cellular adiponectin in polycystic ovary syndrome: relationship to glucose tolerance and insulin action. *Fertil.Steril.* 89, 1200-1208.
11. Aruna,B, Ghosh,S, Singh,AK, Mande,SC, Srinivas,V, Chauhan,R et al (2003): Human recombinant resistin protein displays a tendency to aggregate by forming intermolecular disulfide linkages. *Biochemistry* 42, 10554-10559.
12. Auger,J, Kunstmann,JM, Czyglik,F, Jouannet,P (1995): Decline in semen quality among fertile men in Paris during the past 20 years. *N.Engl.J Med* 332, 281-285.
13. Baba,T, Hoff,HB, III, Nemoto,H, Lee,H, Orth,J, Arai,Y et al (1993): Acrogranin, an acrosomal cysteine-rich glycoprotein, is the precursor of the growth-modulating peptides, granulins, and epithelins, and is expressed in somatic as well as male germ cells. *Mol.Reprod.Dev.* 34, 233-243.
14. Bacon,CG, Mittleman,MA, Kawachi,I, Giovannucci,E, Glasser,DB, Rimm,EB (2006): A prospective study of risk factors for erectile dysfunction. *J Urol.* 176, 217-221.
15. Banerjee,RR, Rangwala,SM, Shapiro,JS, Rich,AS, Rhoades,B, Qi,Y et al (2004): Regulation of fasted blood glucose by resistin. *Science* 303, 1195-1198.

16. Banks,WA (2003): Is obesity a disease of the blood-brain barrier? Physiological, pathological, and evolutionary considerations. *Curr.Pharm.Des* 9, 801-809.
17. Banks,WA, McLay,RN, Kastin,AJ, Sarmiento,U, Scully,S (1999): Passage of leptin across the blood-testis barrier. *Am.J Physiol* 276, E1099-E1104.
18. Bateman,A, Bennett,HP (1998): Granulins: the structure and function of an emerging family of growth factors. *J Endocrinol.* 158, 145-151.
19. Berndt,J, Kloting,N, Kralisch,S, Kovacs,P, Fasshauer,M, Schon,MR et al (2005): Plasma visfatin concentrations and fat depot-specific mRNA expression in humans. *Diabetes* 54, 2911-2916.
20. Boivin,J, Bunting,L, Collins,JA, Nygren,KG (2007): International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking: potential need and demand for infertility medical care. *Hum.Reprod.* 22, 1506-1512.
21. Bornstein,SR, Uhlmann,K, Haidan,A, Ehrhart-Bornstein,M, Scherbaum,WA (1997): Evidence for a novel peripheral action of leptin as a metabolic signal to the adrenal gland: leptin inhibits cortisol release directly. *Diabetes* 46, 1235-1238.
22. Bottner,A, Kratzsch,J, Muller,G, Kapellen,TM, Bluher,S, Keller,E et al (2004): Gender differences of adiponectin levels develop during the progression of puberty and are related to serum androgen levels. *J Clin Endocrinol.Metab* 89, 4053-4061.
23. Bouloumie,A, Marumo,T, Lafontan,M, Busse,R (1999): Leptin induces oxidative stress in human endothelial cells. *FASEB J* 13, 1231-1238.
24. Bozaoglu,K, Bolton,K, McMillan,J, Zimmet,P, Jowett,J, Collier,G et al (2007): Chemerin is a novel adipokine associated with obesity and metabolic syndrome. *Endocrinol* 148, 4687-4694.
25. Camina,JP, Lage,M, Menendez,C, Grana,M, Garcia-Devesa,J, Dieguez,C et al (2002): Evidence of free leptin in human seminal plasma. *Endocrine* 17, 169-174.
26. Caminos,JE, Bravo,SB, Garces,MF, Gonzalez,CR, Cepeda,LA, Gonzalez,AC et al (2009): Vaspin and amylin are expressed in human and rat placenta and regulated by nutritional status. *Histol.Histopathol.* 24, 979-990.
27. Caminos,JE, Nogueiras,R, Gaytan,F, Pineda,R, Gonzalez,CR, Barreiro,ML et al (2008): Novel expression and direct effects of adiponectin in the rat testis. *Endocrinol* 149, 3390-3402.
28. Caprio,M, Fabbrini,E, Ricci,G, Basciani,S, Gnessi,L, Arizzi,M et al (2003): Ontogenesis of leptin receptor in rat leydig cells. *Biol.Reprod.* 68, 1199-1207.
29. Caprio,M, Isidori,AM, Carta,AR, Moretti,C, Dufau,ML, Fabbri,A (1999): Expression of functional leptin receptors in rodent Leydig cells. *Endocrinol* 140, 4939-4947.
30. Carlsen,E, Giwercman,A, Keiding,N, Skakkebaek,NE (1992): Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. *BMJ* 305, 609-613.
31. Cash,JL, Hart,R, Russ,A, Dixon,JP, Colledge,WH, Doran,J et al (2008): Synthetic chemerin-derived peptides suppress inflammation through ChemR23. *J Exp.Med* 205, 767-775.

32. Ceddia, RB, Somwar, R, Maida, A, Fang, X, Bikopoulos, G, Sweeney, G (2005): Globular adiponectin increases GLUT4 translocation and glucose uptake but reduces glycogen synthesis in rat skeletal muscle cells. *Diabetologia* 48, 132-139.
33. Chabrolle, C, Tosca, L, Dupont, J (2007): Regulation of adiponectin and its receptors in rat ovary by human chorionic gonadotrophin treatment and potential involvement of adiponectin in granulosa cell steroidogenesis. *Reproduction*. 133, 719-731.
34. Chavarro, JE, Rich-Edwards, JW, Rosner, BA, Willett, WC (2007): Diet and lifestyle in the prevention of ovulatory disorder infertility. *Obstet. Gynecol.* 110, 1050-1058.
35. Chavarro, JE, Toth, TL, Wright, DL, Meeker, JD, Hauser, R (2010): Body mass index in relation to semen quality, sperm DNA integrity, and serum reproductive hormone levels among men attending an infertility clinic. *Fertil. Steril.* 93, 2222-2231.
36. Chen, H, Montagnani, M, Funahashi, T, Shimomura, I, Quon, MJ (2003): Adiponectin stimulates production of nitric oxide in vascular endothelial cells. *J Biol. Chem.* 278, 45021-45026.
37. Chen, MP, Chung, FM, Chang, DM, Tsai, JC, Huang, HF, Shin, SJ et al (2006): Elevated plasma level of visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol. Metab* 91, 295-299.
38. Cioffi, JA, Shafer, AW, Zupancic, TJ, Smith-Gbur, J, Mikhail, A, Platika, D et al (1996): Novel B219/OB receptor isoforms: possible role of leptin in hematopoiesis and reproduction. *Nat. Med* 2, 585-589.
39. Combs, TP, Berg, AH, Rajala, MW, Klebanov, S, Iyengar, P, Jimenez-Chillaron, JC et al (2003): Sexual differentiation, pregnancy, calorie restriction, and aging affect the adipocyte-specific secretory protein adiponectin. *Diabetes* 52, 268-276.
40. Cuevas-Antonio, R, Cancino, C, rechavaleta-Velasco, F, Andrade, A, Barron, L, Estrada, I et al (2010): Expression of progranulin (Acrogranin/PCDGF/Granulin-Epithelin Precursor) in benign and malignant ovarian tumors and activation of MAPK signaling in ovarian cancer cell line. *Cancer Invest* 28, 452-458.
41. Cunningham, MJ, Clifton, DK, Steiner, RA (1999): Leptin's actions on the reproductive axis: perspectives and mechanisms. *Biol. Reprod.* 60, 216-222.
42. Dandona, P, Aljada, A, Chaudhuri, A, Mohanty, P, Garg, R (2005): Metabolic syndrome: a comprehensive perspective based on interactions between obesity, diabetes, and inflammation. *Circulation* 111, 1448-1454.
43. Daniel, R, Daniels, E, He, Z, Bateman, A (2003): Progranulin (acrogranin/PC cell-derived growth factor/granulin-epithelin precursor) is expressed in the placenta, epidermis, microvasculature, and brain during murine development. *Dev. Dyn.* 227, 593-599.
44. Daniel, R, He, Z, Carmichael, KP, Halper, J, Bateman, A (2000): Cellular localization of gene expression for progranulin. *J Histochem. Cytochem.* 48, 999-1009.
45. de Boer, H, Verschoor, L, Ruinemans-Koerts, J, Jansen, M (2005): Letrozole normalizes serum testosterone in severely obese men with hypogonadotropic hypogonadism. *Diabetes Obes. Metab* 7, 211-215.
46. de Kretser, DM, Baker, HW (1999): Infertility in men: recent advances and continuing controversies. *J Clin Endocrinol. Metab* 84, 3443-3450.

47. Du Plessis,SS, Cabler,S, McAlister,DA, Sabanegh,E, Agarwal,A (2010): The effect of obesity on sperm disorders and male infertility. *Nat.Rev.Urol.* 7, 153-161.
48. El-Haschimi,K, Pierroz,DD, Hileman,SM, Bjorbaek,C, Flier,JS (2000): Two defects contribute to hypothalamic leptin resistance in mice with diet-induced obesity. *J Clin Invest* 105, 1827-1832.
49. El-Hefnawy,T, Ioffe,S, Dym,M (2000): Expression of the leptin receptor during germ cell development in the mouse testis. *Endocrinol* 141, 2624-2630.
50. Eriksen,JL, Mackenzie,IR (2008): Progranulin: normal function and role in neurodegeneration. *J Neurochem.* 104, 287-297.
51. ESHRE Capri Workshop Group. (2006): Nutrition and reproduction in women. *Hum.Reprod.Update.* 12, 193-207.
52. Esposito,K, Giugliano,F, Di,PC, Giugliano,G, Marfella,R, D'Andrea,F et al (2004): Effect of lifestyle changes on erectile dysfunction in obese men: a randomized controlled trial. *JAMA* 291, 2978-2984.
53. Farooqi,IS, Jebb,SA, Langmack,G, Lawrence,E, Cheetham,CH, Prentice,AM et al (1999): Effects of recombinant leptin therapy in a child with congenital leptin deficiency. *N.Engl.J Med* 341, 879-884.
54. Faßhauer M., Blüher M. (2010): Adipokine: Rolle in der Pathophysiologie und Therapie von Adipositas und Typ 2 Diabetes mellitus. *J Lab Med* 2009 33, 1-6.
55. Fejes,I, Koloszar,S, Zavaczki,Z, Daru,J, Szollosi,J, Pal,A (2006): Effect of body weight on testosterone/estradiol ratio in oligozoospermic patients. *Arch.Androl* 52, 97-102.
56. Fried,SK, Ricci,MR, Russell,CD, Laferrere,B (2000): Regulation of leptin production in humans. *J Nutr.* 130, 3127S-3131S.
57. Fruebis,J, Tsao,TS, Javorschi,S, Ebbets-Reed,D, Erickson,MR, Yen,FT et al (2001): Proteolytic cleavage product of 30-kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 98, 2005-2010.
58. Fukuhara,A, Matsuda,M, Nishizawa,M, Segawa,K, Tanaka,M, Kishimoto,K et al (2005): Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin. *Science* 307, 426-430.
59. Galic,S, Oakhill,JS, Steinberg,GR (2010): Adipose tissue as an endocrine organ. *Mol.Cell Endocrinol.* 316, 129-139.
60. Gijssels,I, van der,ZJ, Engelborghs,S, Goossens,D, Peeters,K, Mattheijssens,M et al (2008): Progranulin locus deletion in frontotemporal dementia. *Hum.Mutat.* 29, 53-58.
61. Glander,HJ, Lammert,A, Paasch,U, Glasow,A, Kratzsch,J (2002): Leptin exists in tubuli seminiferi and in seminal plasma. *Andrologia* 34, 7.
62. Globerman,H, Shen-Orr,Z, Karnieli,E, Aloni,Y, Charuzi,I (2005): Inhibin B in men with severe obesity and after weight reduction following gastroplasty. *Endocr.Res.* 31, 17-26.

63. Hammoud,AO, Gibson,M, Peterson,CM, Hamilton,BD, Carrell,DT (2006): Obesity and Male Reproductive Potential. *J Androl* Published ahead of print on June 2, 2006.
64. Hammoud,AO, Gibson,M, Peterson,CM, Meikle,AW, Carrell,DT (2008a): Impact of male obesity on infertility: a critical review of the current literature. *Fertil.Steril.* 90, 897-904.
65. Hammoud,AO, Wilde,N, Gibson,M, Parks,A, Carrell,DT, Meikle,AW (2008b): Male obesity and alteration in sperm parameters. *Fertil.Steril.* Online early.
66. Haron,MN, D'Souza,UJ, Jaafar,H, Zakaria,R, Singh,HJ (2010): Exogenous leptin administration decreases sperm count and increases the fraction of abnormal sperm in adult rats. *Fertil.Steril.* 93, 322-324.
67. Hatami-Baroogh,L, Razavi,S, Zarkesh-Esfahani,H, Tavalae,M, Tanhaei,S, Ghaedi,K et al (2010): Evaluation of the leptin receptor in human spermatozoa. *Reprod.Biol.Endocrinol.* 8, 17.
68. Havel,PJ (2004): Update on adipocyte hormones: regulation of energy balance and carbohydrate/lipid metabolism. *Diabetes* 53 Suppl 1, S143-S151.
69. He,Z, Ong,CH, Halper,J, Bateman,A (2003): Progranulin is a mediator of the wound response. *Nat.Med* 9, 225-229.
70. Hida,K (2010): Visceral adipose tissue-derived serpine protease inhibitor: A unique insulin-sensitizing adipocytokine in obesity. *PNAS* 102, 10610-10615.
71. Hivert,MF, Sullivan,LM, Fox,CS, Nathan,DM, D'Agostino,RB, Sr., Wilson,PW et al (2008): Associations of adiponectin, resistin, and tumor necrosis factor-alpha with insulin resistance. *J Clin Endocrinol.Metab* 93, 3165-3172.
72. Hofny,ER, Ali,ME, bdel-Hafez,HZ, Kamal,E, Mohamed,EE, bd El-Azeem,HG et al (2010): Semen parameters and hormonal profile in obese fertile and infertile males. *Fertil.Steril.* 94, 581-584.
73. Hotamisligil,GS (2006): Inflammation and metabolic disorders. *Nature* 444, 860-867.
74. Hotta,K, Funahashi,T, Arita,Y, Takahashi,M, Matsuda,M, Okamoto,Y et al (2000): Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 20, 1595-1599.
75. Houseknecht,KL, Baile,CA, Matteri,RL, Spurlock,ME (1998): The biology of leptin: a review. *J Anim Sci.* 76, 1405-1420.
76. Hrabal,R, Chen,Z, James,S, Bennett,HP, Ni,F (1996): The hairpin stack fold, a novel protein architecture for a new family of protein growth factors. *Nat.Struct.Biol.* 3, 747-752.
77. Hu,W, Feng,P (2010): Elevated serum chemerin concentrations are associated with renal dysfunction in type 2 diabetic patients. *Diabetes Res.Clin Pract.*
78. Irvine,S (1996): Is the human testis still an organ at risk? *BMJ* 312, 1557-1558.
79. Ishikawa,T, Fujioka,H, Ishimura,T, Takenaka,A, Fujisawa,M (2007): Expression of leptin and leptin receptor in the testis of fertile and infertile patients. *Andrologia* 39, 22-27.

80. Isidori,AM, Caprio,M, Strollo,F, Moretti,C, Frajese,G, Isidori,A et al (1999): Leptin and androgens in male obesity: evidence for leptin contribution to reduced androgen levels. *J Clin Endocrinol.Metab* 84, 3673-3680.
81. Jensen,TK, Andersson,AM, Jorgensen,N, Andersen,AG, Carlsen,E, Petersen,JH et al (2004): Body mass index in relation to semen quality and reproductive hormones among 1,558 Danish men. *Fertil.Steril.* 82, 863-870.
82. Joep,T, Lammert,A, Kratzsch,J, Paasch,U, Glander,HJ (2003): Leptin and leptin receptor in human seminal plasma and in human spermatozoa. *Int.J Androl* 26, 335-341.
83. Kadoglou,NP, Gkontopoulos,A, Kapelouzou,A, Fotiadis,G, Theofilogiannakos,EK, Kottas,G et al (2011): Serum levels of vaspin and visfatin in patients with coronary artery disease-Kozani study. *Clin Chim.Acta* 412, 48-52.
84. Kadowaki,T, Yamauchi,T (2005): Adiponectin and adiponectin receptors. *Endocr.Rev.* 26, 439-451.
85. Kahn,SE, Hull,RL, Utzschneider,KM (2006): Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature* 444, 840-846.
86. Kamin,D, Hadigan,C, Lehrke,M, Mazza,S, Lazar,MA, Grinspoon,S (2005): Resistin levels in human immunodeficiency virus-infected patients with lipoatrophy decrease in response to rosiglitazone. *J Clin Endocrinol.Metab* 90, 3423-3426.
87. Kapoor,D, Clarke,S, Stanworth,R, Channer,KS, Jones,TH (2007): The effect of testosterone replacement therapy on adipocytokines and C-reactive protein in hypogonadal men with type 2 diabetes. *Eur.J Endocrinol.* 156, 595-602.
88. Karlsson,C, Lindell,K, Svensson,E, Bergh,C, Lind,P, Billig,H et al (1997): Expression of functional leptin receptors in the human ovary. *J Clin Endocrinol.Metab* 82, 4144-4148.
89. Kaser,S, Kaser,A, Sandhofer,A, Ebenbichler,CF, Tilg,H, Patsch,JR (2003): Resistin messenger-RNA expression is increased by proinflammatory cytokines in vitro. *Biochem.Biophys.Res.Commun.* 309, 286-290.
90. Keck,C, Neulen,J, Behre,HM, Breckwoldt,M (2002): Endokrinologie, Reproduktionsmedizin, Andrologie. In Thieme Verlag, editor. Stuttgart, New-York.
91. Kieffer,TJ, Heller,RS, Habener,JF (1996): Leptin receptors expressed on pancreatic beta-cells. *Biochem.Biophys.Res.Commun.* 224, 522-527.
92. Kley,HK, Deselaers,T, Peerenboom,H (1981): Evidence for hypogonadism in massively obese males due to decreased free testosterone. *Horm.Metab Res.* 13, 639-641.
93. Kloting,N, Berndt,J, Kralisch,S, Kovacs,P, Fasshauer,M, Schon,MR et al (2006): Vaspin gene expression in human adipose tissue: association with obesity and type 2 diabetes. *Biochem.Biophys.Res.Commun.* 339, 430-436.
94. Kloting,N, Stumvoll,M, Bluher,M (2007): [The biology of visceral fat]. *Internist (Berl)* 48, 126-133.
95. Koloszar,S, Fejes,I, Zavaczki,Z, Daru,J, Szollosi,J, Pal,A (2005): Effect of body weight on sperm concentration in normozoospermic males. *Arch.Androl* 51, 299-304.

96. Korner,A, Garten,A, Bluher,M, Tauscher,R, Kratzsch,J, Kiess,W (2007): Molecular characteristics of serum visfatin and differential detection by immunoassays. *J Clin Endocrinol.Metab* 92, 4783-4791.
97. Kort,HI, Massey,JB, Elsner,CW, Mitchell-Leef,D, Shapiro,DB, Witt,MA et al (2006): Impact of body mass index values on sperm quantity and quality. *J Androl* 27, 450-452.
98. Kralisch,S, Klein,J, Lossner,U, Bluher,M, Paschke,R, Stumvoll,M et al (2005b): Hormonal regulation of the novel adipocytokine visfatin in 3T3-L1 adipocytes. *J Endocrinol.* 185, R1-R8.
99. Kralisch,S, Klein,J, Lossner,U, Bluher,M, Paschke,R, Stumvoll,M et al (2005a): Interleukin-6 is a negative regulator of visfatin gene expression in 3T3-L1 adipocytes. *Am.J Physiol Endocrinol.Metab* 289, E586-E590.
100. Kratzsch,J, Paasch,U, Grunewald,S, Mueller,MA, Thiery,J, Glander,HJ (2008): Resistin correlates with elastase and interleukin-6 in human seminal plasma. *Reprod.Biomed.Online.* 16, 283-288.
101. Kubota,N, Terauchi,Y, Yamauchi,T, Kubota,T, Moroi,M, Matsui,J et al (2002): Disruption of adiponectin causes insulin resistance and neointimal formation. *J.Biol.Chem.* 277, 25863-25866.
102. Lackey,BR, Gray,SL, Henricks,DM (2002): Measurement of leptin and insulin-like growth factor-I in seminal plasma from different species. *Physiol Res.* 51, 309-311.
103. Lampiao,F, Du Plessis,SS (2008): Insulin and leptin enhance human sperm motility, acrosome reaction and nitric oxide production. *Asian J Androl* 10, 799-807.
104. Li,HW, Chiu,PC, Cheung,MP, Yeung,WS, WS,O (2009): Effect of leptin on motility, capacitation and acrosome reaction of human spermatozoa. *Int.J Androl* 32, 687-694.
105. Luukkaa,V, Pesonen,U, Huhtaniemi,I, Lehtonen,A, Tilvis,R, Tuomilehto,J et al (1998): Inverse correlation between serum testosterone and leptin in men. *J Clin Endocrinol.Metab* 83, 3243-3246.
106. MacDonald,AA, Herbison,GP, Showell,M, Farquhar,CM (2010): The impact of body mass index on semen parameters and reproductive hormones in human males: a systematic review with meta-analysis. *Hum.Reprod.Update.* 16, 293-311.
107. Maeda,N, Shimomura,I, Kishida,K, Nishizawa,H, Matsuda,M, Nagaretani,H et al (2002): Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP30. *Nat.Med* 8, 731-737.
108. Magnusdottir,EV, Thorsteinsson,T, Thorsteinsdottir,S, Heimisdottir,M, Olafsdottir,K (2005): Persistent organochlorines, sedentary occupation, obesity and human male subfertility. *Hum.Reprod.* 20, 208-215.
109. Matilsky,M, Battino,S, Ben Ami,M, Geslevich,Y, Eyali,V, Shalev,E (1993): The effect of ejaculatory frequency on semen characteristics of normozoospermic and oligozoospermic men from an infertile population. *Hum.Reprod.* 8, 71-73.
110. Matsuzawa,Y (2006): The metabolic syndrome and adipocytokines. *FEBS Lett.* 580, 2917-2921.

111. Mediagnost GmbH Reutlingen. (2005): Kitbeilage Human-Leptin-RIA Sensitiv LEP-R40. S.31.
112. Mediagnost GmbH Reutlingen. (2007): Kitbeilage Resistin ELISA E50. S.18.
113. Mediagnost GmbH Reutlingen. (2010b): Kitbeilage Chemerin ELISA E102. S.15.
114. Mediagnost GmbH Reutlingen. (2010a): Kitbeilage Progranulin ELISA E103. S.14.
115. Menkveld,R, Kruger,TF (1995): Advantages of strict (Tygerberg) criteria for evaluation of sperm morphology. *Int J Androl* 18 Suppl 2:36-42, 36-42.
116. Metwally,M, Ong,KJ, Ledger,WL, Li,TC (2008): Does high body mass index increase the risk of miscarriage after spontaneous and assisted conception? A meta-analysis of the evidence. *Fertil.Steril.* 90, 714-726.
117. Muse,ED, Obici,S, Bhanot,S, Monia,BP, McKay,RA, Rajala,MW et al (2004): Role of resistin in diet-induced hepatic insulin resistance. *J Clin Invest* 114, 232-239.
118. Nieschlag,E, Behre,HM, Nieschlag,S (2009): Andrologie-Grundlagen und Klinik der reproduktiven Gesundheit des Mannes , 3 ed. Heidelberg: Springer Medizin Verlag.
119. Nogueiras,R, Barreiro,ML, Caminos,JE, Gaytan,F, Suominen,JS, Navarro,VM et al (2004): Novel expression of resistin in rat testis: functional role and regulation by nutritional status and hormonal factors. *J Cell Sci.* 117, 3247-3257.
120. Ocon-Grove,O, Krzysik-Walker,S, Maddineni,S, Hendricks,G, Ramachandran,R (2008): Adiponectin and its receptors are expressed in the chicken testis: influence of sexual maturation on testicular AdipoR1 and AdipoR2 mRNA abundance. *Reproduction.*
121. Ocon-Grove,OM, Krzysik-Walker,SM, Maddineni,SR, Hendricks,GL, III, Ramachandran,R (2010): NAMPT (visfatin) in the chicken testis: influence of sexual maturation on cellular localization, plasma levels and gene and protein expression. *Reproduction.* 139, 217-226.
122. Oehninger,S (2000): Clinical and laboratory management of male infertility: an opinion on its current status. *J Androl* 21, 814-821.
123. Ohlson,LO, Larsson,B, Svardsudd,K, Welin,L, Eriksson,H, Wilhelmsen,L et al (1985): The influence of body fat distribution on the incidence of diabetes mellitus. 13.5 years of follow-up of the participants in the study of men born in 1913. *Diabetes* 34, 1055-1058.
124. Oki,K, Yamane,K, Kamei,N, Nojima,H, Kohno,N (2007): Circulating visfatin level is correlated with inflammation, but not with insulin resistance. *Clin Endocrinol.(Oxf)* 67, 796-800.
125. Orio,F, Jr., Palomba,S, Cascella,T, Milan,G, Mioni,R, Pagano,C et al (2003): Adiponectin levels in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol.Metab* 88, 2619-2623.
126. Osorio-Costa,F, Rocha,GZ, Dias,MM, Carvalheira,JB (2009): Epidemiological and molecular mechanisms aspects linking obesity and cancer. *Arq Bras.Endocrinol.Metabol.* 53, 213-226.

127. Ouchi,N, Kihara,S, Funahashi,T, Matsuzawa,Y, Walsh,K (2003): Obesity, adiponectin and vascular inflammatory disease. *Curr.Opin.Lipidol.* 14, 561-566.
128. Ouchi,N, Parker,JL, Lugus,JJ, Walsh,K (2011): Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat.Rev.Immunol.* 11, 85-97.
129. Paasch,U, Grunewald,S, Kratzsch,J, Glander,HJ (2010): Obesity and age affect male fertility potential. *Fertil.Steril.* 94, 2898-2901.
130. Paasch,U, Heidenreich,F, Pursche,T, Kuhlisch,E, Kettner,K, Grunewald,S et al (2011): Identification of increased amounts of eppin protein complex components in sperm cells of diabetic and obese individuals by difference gel electrophoresis. *Mol.Cell Proteomics.*
131. Parolini,S, Santoro,A, Marcenaro,E, Luini,W, Massardi,L, Facchetti,F et al (2007): The role of chemerin in the colocalization of NK and dendritic cell subsets into inflamed tissues. *Blood* 109, 3625-3632.
132. Patel,L, Buckels,AC, Kinghorn,IJ, Murdock,PR, Holbrook,JD, Plumpton,C et al (2003): Resistin is expressed in human macrophages and directly regulated by PPAR gamma activators. *Biochem.Biophys.Res.Commun.* 300, 472-476.
133. Patel,SD, Rajala,MW, Rossetti,L, Scherer,PE, Shapiro,L (2004): Disulfide-dependent multimeric assembly of resistin family hormones. *Science* 304, 1154-1158.
134. Pauli,EM, Legro,RS, Demers,LM, Kunselman,AR, Dodson,WC, Lee,PA (2008): Diminished paternity and gonadal function with increasing obesity in men. *Fertil.Steril.* 90, 346-351.
135. Paulsen,CA, Berman,NG, Wang,C (1996): Data from men in greater Seattle area reveals no downward trend in semen quality: further evidence that deterioration of semen quality is not geographically uniform. *Fertil.Steril.* 65, 1015-1020.
136. Pellemounter,MA, Cullen,MJ, Baker,MB, Hecht,R, Winters,D, Boone,T et al (1995): Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science* 269, 540-543.
137. Ploen,L, Setchell,BP (1992): Blood-testis barriers revisited. A homage to Lennart Nicander. *Int.J Androl* 15, 1-4.
138. Plymate,SR, Matej,LA, Jones,RE, Friedl,KE (1988): Inhibition of sex hormone-binding globulin production in the human hepatoma (Hep G2) cell line by insulin and prolactin. *J Clin Endocrinol.Metab* 67, 460-464.
139. Qi,Y, Nie,Z, Lee,YS, Singhal,NS, Scherer,PE, Lazar,MA et al (2006): Loss of resistin improves glucose homeostasis in leptin deficiency. *Diabetes* 55, 3083-3090.
140. Qin,J, az-Cueto,L, Schwarze,JE, Takahashi,Y, Imai,M, Isuzugawa,K et al (2005): Effects of progranulin on blastocyst hatching and subsequent adhesion and outgrowth in the mouse. *Biol.Reprod.* 73, 434-442.
141. Rabe,K, Lehrke,M, Parhofer,KG, Broedl,UC (2008): Adipokines and insulin resistance. *Mol.Med* 14, 741-751.
142. Rajala,MW, Qi,Y, Patel,HR, Takahashi,N, Banerjee,R, Pajvani,UB et al (2004): Regulation of resistin expression and circulating levels in obesity, diabetes, and fasting. *Diabetes* 53, 1671-1679.

143. Rasouli,N, Yao-Borengasser,A, Miles,LM, Elbein,SC, Kern,PA (2006): Increased plasma adiponectin in response to pioglitazone does not result from increased gene expression. *Am.J Physiol Endocrinol.Metab* 290, E42-E46.
144. Revollo,JR, Korner,A, Mills,KF, Satoh,A, Wang,T, Garten,A et al (2007): Nampt/PBEF/Visfatin regulates insulin secretion in beta cells as a systemic NAD biosynthetic enzyme. *Cell Metab* 6, 363-375.
145. Roe,DA, Eickwort,KR (1976): Relationships between obesity and associated health factors with unemployment among low income women. *J Am.Med Womens Assoc.* 31, 193-9, 203.
146. Roh,SG, Song,SH, Choi,KC, Katoh,K, Wittamer,V, Parmentier,M et al (2007): Chemerin--a new adipokine that modulates adipogenesis via its own receptor. *Biochem.Biophys.Res.Commun.* 362, 1013-1018.
147. Rosen,ED, Spiegelman,BM (2006): Adipocytes as regulators of energy balance and glucose homeostasis. *Nature* 444, 847-853.
148. Rosenbaum,M, Nicolson,M, Hirsch,J, Heymsfield,SB, Gallagher,D, Chu,F et al (1996): Effects of gender, body composition, and menopause on plasma concentrations of leptin. *J Clin Endocrinol.Metab* 81, 3424-3427.
149. Saladin,R, De,VP, Guerre-Millo,M, Leturque,A, Girard,J, Staels,B et al (1995): Transient increase in obese gene expression after food intake or insulin administration. *Nature* 377, 527-529.
150. Santos-Alvarez,J, Goberna,R, Sanchez-Margalet,V (1999): Human leptin stimulates proliferation and activation of human circulating monocytes. *Cell Immunol.* 194, 6-11.
151. Satoh,H, Nguyen,MT, Miles,PD, Imamura,T, Usui,I, Olefsky,JM (2004): Adenovirus-mediated chronic "hyper-resistinemia" leads to in vivo insulin resistance in normal rats. *J Clin Invest* 114, 224-231.
152. Savage,DB, O'Rahilly,S (2002): Leptin: a novel therapeutic role in lipodystrophy. *J Clin Invest* 109, 1285-1286.
153. Scherer,PE (2006): Adipose tissue: from lipid storage compartment to endocrine organ. *Diabetes* 55, 1537-1545.
154. Schwartz,MW, Woods,SC, Porte,D, Jr., Seeley,RJ, Baskin,DG (2000): Central nervous system control of food intake. *Nature* 404, 661-671.
155. Seidell,JC, Perusse,L, Despres,JP, Bouchard,C (2001): Waist and hip circumferences have independent and opposite effects on cardiovascular disease risk factors: the Quebec Family Study. *Am.J Clin Nutr.* 74, 315-321.
156. Sentinelli,F, Romeo,S, Arca,M, Filippi,E, Leonetti,F, Banchieri,M et al (2002): Human resistin gene, obesity, and type 2 diabetes: mutation analysis and population study. *Diabetes* 51, 860-862.
157. Sharpe,RM, McKinnell,C, Kivlin,C, Fisher,JS (2003): Proliferation and functional maturation of Sertoli cells, and their relevance to disorders of testis function in adulthood. *Reproduction.* 125, 769-784.

158. Shen,XP, Zou,SB, Wu,HJ, Zhang,Y (2008): [Circulating levels of oxidative stress and adipocytokines in obese subjects]. *Xi.Bao. Yu Fen.Zi.Mian. Yi.Xue.Za Zhi.* 24, 721-723.
159. Shin,MJ, Lee,JH, Jang,Y, Park,E, Oh,J, Chung,JH et al (2006): Insulin resistance, adipokines, and oxidative stress in nondiabetic, hypercholesterolemic patients: leptin as an 8-epi-prostaglandin F2alpha determinant. *Metabolism* 55, 918-922.
160. Shoelson,SE, Lee,J, Goldfine,AB (2006): Inflammation and insulin resistance. *J Clin Invest* 116, 1793-1801.
161. Sinha,MK, Ohannesian,JP, Heiman,ML, Kriauciunas,A, Stephens,TW, Magosin,S et al (1996a): Nocturnal rise of leptin in lean, obese, and non-insulin-dependent diabetes mellitus subjects. *J Clin Invest* 97, 1344-1347.
162. Sinha,MK, Opentanova,I, Ohannesian,JP, Kolaczynski,JW, Heiman,ML, Hale,J et al (1996b): Evidence of free and bound leptin in human circulation. Studies in lean and obese subjects and during short-term fasting. *J Clin Invest* 98, 1277-1282.
163. Sommer,G, Garten,A, Petzold,S, Beck-Sickinger,AG, Bluher,M, Stumvoll,M et al (2008): Visfatin/PBEF/Nampt: structure, regulation and potential function of a novel adipokine. *Clin Sci.(Lond)* 115, 13-23.
164. Soyupek,S, Armagan,A, Serel,TA, Hoscan,MB, Perk,H, Karaoz,E et al (2005): Leptin expression in the testicular tissue of fertile and infertile men. *Arch.Androl* 51, 239-246.
165. Statistisches Bundesamt Wiesbaden. (2010): Nachhaltige Entwicklung in Deutschland, Indikatorenbericht 2010. 48-49.
166. Stejskal,D, Karpisek,M, Hanulova,Z, Svestak,M (2008): Chemerin is an independent marker of the metabolic syndrome in a Caucasian population--a pilot study. *Biomed.Pap.Med Fac.Univ Palacky.Olomouc.Czech.Repub.* 152, 217-221.
167. Steppan,CM, Bailey,ST, Bhat,S, Brown,EJ, Banerjee,RR, Wright,CM et al (2001): The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* 409, 307-312.
168. Strain,GW, Zumoff,B, Kream,J, Strain,JJ, Deucher,R, Rosenfeld,RS et al (1982): Mild Hypogonadotropic hypogonadism in obese men. *Metabolism* 31, 871-875.
169. Suzuki,M, Nishihara,M (2002): Granulin precursor gene: a sex steroid-inducible gene involved in sexual differentiation of the rat brain. *Mol.Genet.Metab* 75, 31-37.
170. Swan,SH, Elkin,EP, Fenster,L (1997): Have sperm densities declined? A reanalysis of global trend data. *Environ.Health Perspect.* 105, 1228-1232.
171. Takahashi,M, Takahashi,Y, Takahashi,K, Zolotaryov,FN, Hong,KS, Kitazawa,R et al (2008): Chemerin enhances insulin signaling and potentiates insulin-stimulated glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes. *FEBS Lett.* 582, 573-578.
172. Tan,BK, Chen,J, Farhatullah,S, Adya,R, Kaur,J, Heutling,D et al (2009): Insulin and metformin regulate circulating and adipose tissue chemerin. *Diabetes* 58, 1971-1977.
173. Tartaglia,LA, Dembski,M, Weng,X, Deng,N, Culpepper,J, Devos,R et al (1995): Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell* 83, 1263-1271.
174. Tena-Sempere,M, Manna,PR, Zhang,FP, Pinilla,L, Gonzalez,LC, Dieguez,C et al (2001): Molecular mechanisms of leptin action in adult rat testis: potential targets for

- leptin-induced inhibition of steroidogenesis and pattern of leptin receptor messenger ribonucleic acid expression. *J Endocrinol.* 170, 413-423.
175. Thonneau,P, Marchand,S, Tallec,A, Ferial,ML, Ducot,B, Lansac,J et al (1991): Incidence and main causes of infertility in a resident population (1,850,000) of three French regions (1988-1989). *Hum.Reprod.* 6, 811-816.
 176. Tolkatchev,D, Malik,S, Vinogradova,A, Wang,P, Chen,Z, Xu,P et al (2008): Structure dissection of human progranulin identifies well-folded granulin/epithelin modules with unique functional activities. *Protein Sci.* 17, 711-724.
 177. Tunc,O, Bakos,HW, Tremellen,K (2011): Impact of body mass index on seminal oxidative stress. *Andrologia* 43, 121-128.
 178. Villamor,E, Cnattingius,S (2006): Interpregnancy weight change and risk of adverse pregnancy outcomes: a population-based study. *Lancet* 368, 1164-1170.
 179. Visscher,TL, Seidell,JC (2001): The public health impact of obesity. *Annu.Rev.Public Health* 22, 355-375.
 180. Visser,M, Bouter,LM, McQuillan,GM, Wener,MH, Harris,TB (1999): Elevated C-reactive protein levels in overweight and obese adults. *JAMA* 282, 2131-2135.
 181. von Eynatten,M, Hamann,A (2007): [Adipokines and lipid metabolism in type 2 diabetes]. *Dtsch.Med.Wochenschr.* 132, 1048-1052.
 182. von Sobbe,HU, Koebnick,C, Jenne,L, Kiesewetter,F (2003): Leptin concentrations in semen are correlated with serum leptin and elevated in hypergonadotrophic hypogonadism. *Andrologia* 35, 233-237.
 183. Wang,MY, Zhou,YT, Newgard,CB, Unger,RH (1996): A novel leptin receptor isoform in rat. *FEBS Lett.* 392, 87-90.
 184. Weyer,C, Funahashi,T, Tanaka,S, Hotta,K, Matsuzawa,Y, Pratley,RE et al (2001): Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol.Metab* 86, 1930-1935.
 185. Winters,SJ, Plant,TM (1999): Partial characterization of circulating inhibin-B and pro-alphaC during development in the male rhesus monkey. *Endocrinol* 140, 5497-5504.
 186. Winters,SJ, Wang,C, Abdelrahman,E, Hadeed,V, Dyky,MA, Brufsky,A (2006): Inhibin-B levels in healthy young adult men and prepubertal boys: is obesity the cause for the contemporary decline in sperm count because of fewer Sertoli cells? *J.Androl* 27, 560-564.
 187. Wittamer,V, Bondue,B, Guillabert,A, Vassart,G, Parmentier,M, Communi,D (2005): Neutrophil-mediated maturation of chemerin: a link between innate and adaptive immunity. *J Immunol.* 175, 487-493.
 188. World Health Organization. (2007): The challenge of obesity in the WHO European Region and the strategies for response. Branca, F., Nikogosian, H., and Lobstein, T. (eds).
 189. World Health Organization. (2000): Obesity: preventing and managing the global epidemic. WHO Technical Report Series 894. Geneva.

190. Wright,WW, Musto,NA, Mather,JP, Bardin,CW (1981): Sertoli cells secrete both testis-specific and serum proteins. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 78, 7565-7569.
191. Yamauchi,T, Kamon,J, Ito,Y, Tsuchida,A, Yokomizo,T, Kita,S et al (2003a): Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature* 423, 762-769.
192. Yamauchi,T, Kamon,J, Minokoshi,Y, Ito,Y, Waki,H, Uchida,S et al (2002): Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat.Med* 8, 1288-1295.
193. Yamauchi,T, Kamon,J, Waki,H, Imai,Y, Shimozawa,N, Hioki,K et al (2003b): Globular adiponectin protected ob/ob mice from diabetes and ApoE-deficient mice from atherosclerosis. *J Biol.Chem.* 278, 2461-2468.
194. Yamauchi,T, Kamon,J, Waki,H, Terauchi,Y, Kubota,N, Hara,K et al (2001): The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipotrophy and obesity. *Nat.Med* 7, 941-946.
195. Yamauchi,T, Nio,Y, Maki,T, Kobayashi,M, Takazawa,T, Iwabu,M et al (2007): Targeted disruption of AdipoR1 and AdipoR2 causes abrogation of adiponectin binding and metabolic actions. *Nat.Med* 13, 332-339.
196. Youn,BS, Bang,SI, Kloting,N, Park,JW, Lee,N, Oh,JE et al (2009): Serum progranulin concentrations may be associated with macrophage infiltration into omental adipose tissue. *Diabetes* 58, 627-636.
197. Youn,BS, Kloting,N, Kratzsch,J, Lee,N, Park,JW, Song,ES et al (2008): Serum vaspin concentrations in human obesity and type 2 diabetes. *Diabetes* 57, 372-377.
198. Yusuf,S, Hawken,S, Ounpuu,S, Bautista,L, Franzosi,MG, Commerford,P et al (2005): Obesity and the risk of myocardial infarction in 27,000 participants from 52 countries: a case-control study. *Lancet* 366, 1640-1649.
199. Zamorano,PL, Mahesh,VB, De Sevilla,LM, Chorich,LP, Bhat,GK, Brann,DW (1997): Expression and localization of the leptin receptor in endocrine and neuroendocrine tissues of the rat. *Neuroendocrinology* 65, 223-228.
200. Zhang,Y, Proenca,R, Maffei,M, Barone,M, Leopold,L, Friedman,JM (1994): Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 372, 425-432.
201. Zhu,J, Nathan,C, Jin,W, Sim,D, Ashcroft,GS, Wahl,SM et al (2002): Conversion of proepithelin to epithelins: roles of SLPI and elastase in host defense and wound repair. *Cell* 111, 867-878.
202. Zorn,B, Osredkar,J, Meden-Vrtovec,H, Majdic,G (2007): Leptin levels in infertile male patients are correlated with inhibin B, testosterone and SHBG but not with sperm characteristics. *Int.J Androl* 30, 439-444.

8 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Verändertes Hormonprofil assoziiert mit männlicher Adipositas	- 4 -
Abbildung 2:	Interaktionen und Wirkungen der Adipokine	- 7 -
Abbildung 3:	Darstellung der Oligomerisationsmöglichkeiten des Adiponektinmoleküls	- 8 -
Abbildung 4:	Multimere Struktur des Resistins	- 12 -
Abbildung 5:	Maus-Visfatin im Komplex mit Nikotinamid-Mononukleotid	- 15 -
Abbildung 6:	Proteinstruktur des Granulins (Frakment des Progranulinsmoleküls)	- 16 -
Abbildung 7:	Einteilung der Probanden	- 31 -
Abbildung 8:	Vergleich der Adiponektinkonzentration in Serum und SP	- 52 -
Abbildung 9:	Vergleich der Leptinkonzentration in Serum und SP	- 52 -
Abbildung 10:	Vergleich der Resistinkonzentration in Serum und SP	- 53 -
Abbildung 11:	Vergleich der Chemerinkonzentration in Serum und SP	- 53 -
Abbildung 12:	Vergleich der Vaspinkonzentration in Serum und SP	- 54 -
Abbildung 13:	Vergleich der Visfatinkonzentration in Serum und SP	- 54 -
Abbildung 14:	Vergleich der Progranulinkonzentration in Serum und SP	- 55 -
Abbildung 15:	Scatterblot Adiponektin im Serum vs. Adiponektin im SP (95% Konfidenzintervall)	- 55 -
Abbildung 16:	Signifikante Veränderungen der Adipokinkonzentrationen bei präadipösen/adipösen Probanden im Vergleich zu normalgewichtigen Probanden und deren Zusammenhänge zu Sexualhormonen und Spermiogrammparametern	- 69 -

9 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Inhalt der Testkits und Vorbereitung der Reagenzien (Adiponektin, Resistin, Chemerin und Progranulin)	- 21 -
Tabelle 2: Durchführung der Tests (Adiponektin, Resistin, Chemerin und Progranulin)	- 23 -
Tabelle 3: Inhalt der Testkits und Vorbereitung der Reagenzien (Vaspin und Visfatin)	- 25 -
Tabelle 4: Durchführung der Tests (Vaspin und Visfatin)	- 26 -
Tabelle 5: Inhalt des Testkits und Vorbereitung der Reagenzien	- 28 -
Tabelle 6: Erhebung des andrologischen Status	- 31 -
Tabelle 7: Alter, BMI und Bauchumfang der normalgewichtigen (N), präadipösen (P) und adipösen (A) Probanden-Gruppe	- 35 -
Tabelle 8: Konzentration der Sexualhormone der normalgewichtigen (N), präadipösen (P) und adipösen (A) Probanden-Gruppe	- 36 -
Tabelle 9: Spermogrammparameter der normalgewichtigen (N), präadipösen (P) und adipösen (A) Probanden-Gruppe	- 37 -
Tabelle 10: Korrelationskoeffizienten für den Zusammenhang zwischen Alter, BMI und BU mit Sexualhormonen	- 38 -
Tabelle 11: Korrelationskoeffizienten für den Zusammenhang zwischen Alter, BMI und BU mit Spermogrammparameter	- 38 -
Tabelle 12: Anthropometrische Daten, Sexualhormone und Spermogrammparameter der altersgematchten Gruppen	- 39 -
Tabelle 13: Wiederfindung der Adiponektinkonzentrationen nach linearer Verdünnung	- 39 -
Tabelle 14: Wiederfindung der Adiponektinkonzentrationen nach Aufstockung des optimal verdünnten Seminalplasmas mit verschiedenen Standardkonzentrationen	- 40 -
Tabelle 15: Präzision der Adiponektinkonzentration bei optimalem VF 1:2	- 40 -
Tabelle 16: Wiederfindung der Leptinkonzentrationen nach linearer Verdünnung	- 41 -
Tabelle 17: Wiederfindung der Leptinkonzentrationen nach Aufstockung des optimal verdünnten Seminalplasmas mit verschiedenen Standardkonzentrationen	- 41 -
Tabelle 18: Präzision der Leptinkonzentration bei optimalen VF 1:4	- 41 -
Tabelle 19: Wiederfindung der Resistinkonzentrationen nach linearer Verdünnung	- 42 -
Tabelle 20: Wiederfindung der Resistinkonzentrationen nach Aufstockung des optimal verdünnten Seminalplasmas mit verschiedenen Standardkonzentrationen	- 42 -
Tabelle 21: Präzision der Resistinkonzentration bei optimalem VF 1:20	- 42 -
Tabelle 22: Wiederfindung der Chemerinkonzentrationen nach linearer Verdünnung im Mittelwert von 2 Experimenten	- 43 -
Tabelle 23: Wiederfindung der Chemerinkonzentrationen nach Aufstockung des optimal verdünnten Seminalplasmas mit verschiedenen Standardkonzentrationen	- 43 -
Tabelle 24: Präzision der Chemerinkonzentration bei optimalem VF 1:800	- 44 -

Tabelle 25: Wiederfindung der Vaspinkonzentrationen nach linearer Verdünnung im Mittelwert von 2 Experimenten	- 44 -
Tabelle 26: Wiederfindung der Vaspinkonzentrationen nach Aufstockung des optimal verdünnten Seminalplasmas mit verschiedenen Standardkonzentrationen	- 45 -
Tabelle 27: Präzision der Vaspinkonzentration bei optimalem VF 1:40	- 45 -
Tabelle 28: Wiederfindung der Visfatinkonzentrationen nach linearer Verdünnung	- 45 -
Tabelle 29: Wiederfindung der Visfatinkonzentrationen nach Aufstockung des optimal verdünnten Seminalplasmas mit verschiedenen Standardkonzentrationen	- 46 -
Tabelle 30: Präzision der Visfatinkonzentration bei optimalem VF 1:400	- 46 -
Tabelle 31: Wiederfindung der Progranulinkonzentrationen nach linearer Verdünnung	- 47 -
Tabelle 32: Wiederfindung der Progranulinkonzentrationen nach Aufstockung des optimal verdünnten Seminalplasmas mit verschiedenen Standardkonzentrationen	- 47 -
Tabelle 33: Präzision der Progranulinkonzentration bei optimalem VF 1:2000	- 47 -
Tabelle 34: Adipokinkonzentrationen im Serum der normalgewichtigen (N), präadipösen (P) und adipösen (A) Probanden-Gruppe	- 49 -
Tabelle 35: Adipokinkonzentrationen im SP der normalgewichtigen (N), präadipösen (P) und adipösen (A) Probanden-Gruppe	- 50 -
Tabelle 36: Korrelationskoeffizienten für den Zusammenhang zwischen Adipokinkonzentrationen im Serum/SP mit den Parametern Alter, BMI und BU	- 50 -
Tabelle 37: Adipokinkonzentrationen der altersgematchten Gruppen in Serum und SP	- 51 -
Tabelle 38: Adiponektin in Serum und SP	- 52 -
Tabelle 39: Leptin in Serum und SP	- 52 -
Tabelle 40: Resistin in Serum und SP	- 53 -
Tabelle 41: Chemerin in Serum und SP	- 53 -
Tabelle 42: Vaspin in Serum und SP	- 54 -
Tabelle 43: Visfatin in Serum und SP	- 54 -
Tabelle 44: Progranulin in Serum und SP	- 55 -
Tabelle 45: Korrelationskoeffizienten für den Zusammenhang zwischen Adipokinen im Serum/SP und Sexualhormonen	- 56 -
Tabelle 46: Korrelationskoeffizienten für den Zusammenhang zwischen Adipokinen im Serum/SP und Spermogrammparametern	- 57 -

DANKSAGUNG

Für die Möglichkeit in der Abteilung Andrologie der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie der Universität Leipzig zu promovieren, möchte ich mich bei dem Direktor der Klinik, Herrn Prof. Dr. med J. C. Simon, und dem ehemaligen stellvertretenden Direktor, Herrn Prof. Dr. med. habil. Hans-Jürgen Glander, herzlichst bedanken.

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. habil. Uwe Paasch für die wertvollen Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit sowie für alle kritischen Anregungen und Anstöße zur Weiterentwicklung der Thematik.

Darüber hinaus gebührt meinem Vater Prof. Dr. rer. nat. habil Jürgen Kratzsch großer Dank für die umfangreiche Unterstützung bei der Durchführung der Laboruntersuchungen, inhaltlichen Hilfestellungen und fachlichen Diskussionen.

Weiterhin gilt mein Dank der Diplom-Ernährungswissenschaftlerin Stephanie Thomas. Frau Thomas stand mir stets helfend zur Seite und hat mich unter anderem bei den experimentellen Arbeiten und der statistischen Auswertung sehr unterstützt. Auch Frau PD Dr. med. habil. Sonja Grunewald möchte ich für Ihre Unterstützung danken.

Ein großer Dank gilt allen weiteren Mitarbeitern der Andrologischen Abteilung der Universitätshautklinik und des Instituts für Laboratoriumsmedizin, Klinische Chemie und Molekulare Diagnostik, die durch Ihre Hilfsbereitschaft und gute Zusammenarbeit wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Bei meinen Eltern Gunhild und Jürgen Kratzsch möchte ich mich ganz besonders bedanken, die mir nicht nur das Medizinstudium und damit meine Promotion ermöglichten, sondern auch durch Ihre allgegenwärtige Hilfe in jeglicher Beziehung zum Gelingen der Arbeit beigetragen haben.

Nicht zuletzt gilt ein herzlicher Dank meiner Schwester Johanna Kratzsch und ihrem Freund Gregor Hoffmann für die uneingeschränkte persönliche Unterstützung und die formalen, inhaltlichen und computertechnischen Ratschläge.

ERKLÄRUNG ÜBER DIE EIGENSTÄNDIGE ABFASSUNG DER ARBEIT

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, und dass die vorgelegte Arbeit weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt wurde. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren.

.....
Datum

.....
Dorothea Sophia Kratzsch

