

AZ ANDROLÓGIAI INFEKCIÓK MARKEREI

MARKERS OF ANDROLOGICAL INFECTIONS

LEVELEZÉSI CÍM

Dr. Berényi Mihály
1185 Budapest, Jeges utca 77.
E-mail: drbem@hotmail.com

BERÉNYI MIHÁLY DR.

Állami Egészségügyi Központ, Urológiai Osztály, Budapest
(osztályvezető: dr. Papp György)

A Magyar STD Társaság 2007. november 23-24-én
megtartott Venerológiai Továbbképző Tanfolyamán,
a Társaság XII. Nagygyűlésén elhangzott előadása
alapján írt tanulmány.

ÖSSZEFOGLALÁS

Az andrológiai fertőzéseknek és a következményeiknek diagnosztikájában fontos szerepük van a markereknek. Segítségükkel szervekre lokalizálható az infekció, feltárlhatók a szövődmények (szervkárosodás, szűkület, spermaképromlás, infertilitás). A közlemény röviden összefoglalja a genitális fertőzések legfontosabb markereit (leukocyták, interleukinok, elasztáz, immunglobulinok, reaktív oxigén-speciess, fraktalgin, akrozin, SLPI), azok kapcsolatát az ejakulátum legfontosabb paramétereivel.

KULCSSZAVAK: andrológiai infekciók, markerek, leukocytospermia, elasztáz, interleukinok (IL-6, IL-8), fraktalgin, SLPI

SUMMARY

Markers play an important role in the diagnosis of andrologic infections and their consequences. By means of markers the infections can be localized on organs and the complications may be cleared up (injury of organ, stricture, deterioration of sperm quality, infertility). The paper recapitulates the most important markers of genital infections (leukocytes, interleukines, elastase, immunoglobulins, reactive oxygen species, fractalgin, acrosin, SLPI) and their influences on the substantial parameters of human ejaculate.

KEY WORDS: andrologic infection, markers, leukocytospermia, elastase, interleukines (IL-6, IL-8), fractalgin, SLPI

BEVEZETÉS

Az andrológiai fertőzések kórokozói a férfi genitális traktusában (here, mellékhere, ondóvezeték, ondóhólyag, prostata, urethra) okoznak gyulladásokat. Ezek az infekciók az infertilitás legáltalánosabb előidézői, jöhetnek a szokványos spermaanalízis vagy a fertőzés lezajlása utáni egyszerű vizsgálat erre már gyakran nem derít fényt. A „csendes”, tünetszegény fertőzés alattomosan károsít (1). A férfi szubfertilitásának gyakori okozója a járulékos mirigyének gyulladása (*male accessory gland infection*: MAGI), legfőképpen a mellékheréké. Külön kérdés a kimutatható kórokozó nélküli, de a gyulladás tüneteit mutató krónikus prostatitis (prostatodynia).

A kórokozók csaknem teljesen azonosak az STD kórokozóival:

- vírusok (HIV, HPV, HSV, Myxovirus),
- baktériumok (*N. gonorrhoeae*, *E. coli*, *Mycoplasma*, *Ureaplasma*, *Chlamydia*, *Treponema pallidum* stb.),
- gombák (*Candida*),
- paraziták (*Trichomonas vaginalis*).

A vesék felől érkező urológiai kórokozók nem tartoznak az STD-csoportba, jelenlétüket olyan kontaminációnak is tekinthetjük, amely megnehezíti vagy bizonytalanná teszi az andrológiai diagnózist.

A FERTŐZÉS KÁROSÍTÓ HATÁSA

- szervek károsodása (vér–here barrier, szűkületek és elzáródások),
- spermiumok károsodása (agglutináció, motilitás- és morfológiaromlás),
- funkciók károsodása (erectilis dysfunctio: ED).

A következmények a kórokozótól és az érintett szervtől függenek. A Sertoli-sejteknél a vér–here barrier meghibásodása spermiumellenes antitestek képződését indítja el. A spermiumokhoz kötődő ellenanyagok és baktériumok csökkentik a motilitást. A fertőzés okozta immunreakciók, szövetskárosodások a járulékos nemi mirigyek szekrécióját rontják, pl. epididymitisben a neutrális α -glükoszidázét. Mindez végül meddőséghez vezet. Genitális károsodást más okok, többek között baleset, gyógyszer mellékhatás, idegrendszeri ok is előidézhethet.

A FERTŐZÖTTség ÉS A KÓROKOZÓ ISMERETE FONTOS

- az egyén célzott kezelése szempontjából,
- STD megelőzése miatt (spermabank).

A jó spermabank több kórokozót (*Chlamydia*, *N. gonorrhoeae*, CMV, hepatitis B és C, HIV 1 és 2, syphilis) is kiszűr (2).



GYNOFLOR
hüvelytabletta

GYNOFLOR
hüvelytabletta



MEDICO UNO

A FERTŐZÉS DIAGNOSZTIKÁJA

- a fertőzés általános jeleiből (fvs, CRP),
- a kórokozók közvetlen kimutatásával (mikroszkópia, tenyésztés, PCR),
- szervkárosodást mutató biokémiai markerek (glükózidáz, fruktóz) révén.

A vizsgálati anyagot tekintve a gyulladásnak jelei lehetnek szervekben, spermában, vizeletben és vérben is. Például az ondóhólyagban termelődő fruktózt a baktériumok metabolizálhatják, amitől romlik a spermiumok motilitása. Az andrológia markerei a reprodukció normális és kóros szakaszainak mutatói. Csoportosíthatók többek között a spermatogenezis, a fertilizáció, az apoptózis vagy az infekció szempontjai szerint.

A FERTŐZÉS MARKEREI

- szervek (here, mellékhere, ondóhólyag, prostata),
- kórokozók vagy azok egyik része (*Chlamydia trachomatis*, chsp60),
- betegségek (infertilitás, prostatitis stb.) jelzőanyagai lehetnek.

Jelvezhetnek anatómiai és funkcionális rendellenességeket. A normális szervműködést mutató szervspecifikus anyagok képződését a fertőzés károsíthatja. Markerei vannak a testnedveknek, sejteknek is. Selektivitásuk és specificitásuk változó. A gyulladás folyamatában igen sok kémiai anyag vesz részt, de ezek közül kevés a diagnosztikában hasznosítható marker. Az ejakulátum térfogata pl. az ondóhólyag markere lehet, mivel az ejakulátum zöme ebből a mirigyből ered.

Markerek lehetnek:

- sejtek (fvs),
- ellenanyagok, immunglobulinok (IgG, IgA),
- enzimek (granulocita-peroxidáz és -elasztáz),
- hormonok,
- citokinek (IL-6, IL-8),
- szabad gyökök (ROS),
- kis molekulák (8-isoprostane, malonsav-dialdehid: MDA),
- fehérjék (hsp60, cöroloplazmin, SLPI, C-3 komplement).

A fertőzés akut vagy krónikus voltával kapcsolatban fontos tudni, hogy a kórokozóra specifikus IgG antitestek a korábban lezajlott fertőzést is jelzik, szintjük tartósan megőrződik, ezért a friss fertőzés diagnosztizálására nem alkalmasak, erre a nemi utakba is szekretálódó IgA, vagy a vérbeli IgM jó. Az időfaktor szerepét mutatja az is, hogy pl. a HIV kimutatására az első három héten az ELISA nem eléggé érzékeny, mivel még nincs elég antitest (3).

A DIAGNOSZTIKA LABORATÓRIUMI MÓDSZEREI

- PCR, ELISA, immunhisztokémia, RIA, FISH, immunfluoreszcencia, citológia, flow citometria, mikroszkópia, tenyésztés (esetenként kombinációban).
- Az andrológiai infekciók markerei közül kiemeljük azokat, amelyek a rutin vizsgálatokban és részben a kutatásban jelenleg fontosak, illetve azokat, amelyek meghatározására tesztek vannak kereskedelmi forgalomban.

FEHÉRVÉRSEJTEK, LEUKOCYTOSPERMIA

Az infekció általános, de ellentmondásos markere, noha az STD-k többségében kimutatható. Nem utal a fertőzés helyére, hiszen az ejakulátum több mirigy szerv váladékából álló „gyűjtemény”. A leukocytospermiák felében a mikrobiológia és szerológia negatív (4), máskor meg – pl. *Chlamydia* mellől – hiányoznak a fehérvérsejtek. A pozitív tenyésztés sem biztos (húgyúti kontamináció). Kezelés nélkül is elmúlhat. Általában gyenge a korreláció a leukocytospermia mértéke és a gyulladást jelző többi marker közt (ROS), de lehet határozottan pozitív is (elasztáz, IL-6, C-3 komplement). Minden leukocytospermiás mintában magasabb az IL-8 koncentrációja. A fehérvérsejtek hiánya nem zárja ki a fertőzést; ilyenkor másik marker (elasztáz) pozitív lehet.

A teljes fehérvérsejtszám mindig több, mint a peroxidázpozitív sejtek száma, hiszen peroxidáz csak a granulociták és a makrofágok tartalmazzák, a limfociták nem. Az eltérés akár 30% is lehet. A teljes fvs-számot immuncitokémiai módszerrel, monoklonális antitestek segítségével lehet meghatározni. A peroxidázon alapuló módszer nagy előnye lehet, hogy olcsó, és a pozitív mintákat a megjelenő szín révén akár mikroszkóp nélkül is felismerhetjük. A jóval drágább immunhisztokémiai módszerrel a teljes fvs-számot lehet meghatározni.

Jogos a kérdés: Hogyan viszonyítsuk a lelet fvs-koncentrációját a WHO 1 millió/ml-es referenciaértékéhez? A peroxidázos módszerrel kapott 0,7 millió/ml a referenciaérték fölötti is lehet. Az eredményhez meg kellene adni az fvs-meghatározás módszerét is. Egyébként jó volna e határértéket 0,5 millió/ml-re csökkenteni, mivel ennyi fvs is képes oxidatív stresszt – a ROS-képző és -eltávolító redox rendszer zavarát –, azaz oxidációra visszavezethető károsodást okozni.

Az fvs-koncentráció általában magasabb az infertilekben, mint a kontrollcsoportban. Leukocytospermiában romlik a spermiumok motilitása, morfológiája és a hipoozmotikus duzzadás mértéke, károsodik a



GYNO7/003

GYNOFLOR

hüvelytabletta



MEDICO UNO

DNS, a spermiumfejen levő akrozin enzim aktivítása és a fruktóz koncentráció csökken. Kimutatható, hogy *Chlamydia trachomatis* vagy *Ureaplasma urealyticum* inkubált spermiumokban fokozódik a DNS-fragmentáció (5). Ugyanakkor a pozitív tenyésztés és a spermaparaméterek közt többnyire nincs korreláció, feltehetően a fertőzés korai vagy szubklinikai volta miatt.

A C-3 komplement frakció a spermaplazmában szoros korrelációban van a fehérvérsejt számmal (fvs/ml, fvs/ejakulátum), jelzi a „csendes” infekciót, de nem ad több információt a fehérvérsejteknél. Szintén pozitív a korreláció a leukocytospermia és a ROS-szint között (6, 7, 8).

REAKTÍV OXIGÉN SPECIES (ROS)

A patogének és az okozott szövethárosodás a helyszínre vonzza a fehérvérsejteket. A granulociták (PMN) peroxidáz enzime agresszív H_2O_2 -t és más, oxigéntartalmú szabadgyököket generál. Ezek az igen reaktív intermedierek alkotják a ROS-t, amely *hasznos* a hiperaktiválás, kapacitáció és a spermium–petesejt fúzió folyamatában. *Káros* viszont a többlete, mivel oxidatív stresszt, a spermiumfej membránjában foszfolipidperoxidációt, a többszörösen telítetlen zsírsavak (polyunsaturated fatty acid: PUFA) fogyását, DNS- és membránfehérje-ártalmat, azaz spermiumkárosodást okoz. E folyamat jó markere a 8-izoprosztán és a malonsav-dialdehid (MDA). Normálisan egyensúly van a ROS és az anti-oxidánsok közt. Pozitív a korreláció a ROS és a kóros spermiummorfológia közt. A spermadonorok mintegy 25%-a, az infertilisek 72%-a ROS-pozitív. ROS-semlegesítők az antioxidánsok (C-, E-vit.) és spermaplazmában levő kataláz, xantinoxidáz, szuperoxid-dizmutáz stb. Ezek viszonylagos hiánya is oxidatív stresszel és spermiumkárosodással járhat (9). ROS-képzők az ionizáló sugarak is.

A ROS okozta oxidációkor a többszörösen telítetlen zsírsavakból (PUFA) kóros zsírok (lipidperoxidáció) és MDA képződik a spermiummembránban (10). E membrán intaktsága szükséges a spermiumok jó motilitásához, kapacitációjához és a zona pellucidához kötődésükhöz. Normozoospermiaiban pozitív korreláció van a PUFA-koncentráció és a spermiummotilitás között, ennek megfelelően asthenozoospermia mintákban több a telített zsírsavak mennyisége. A PUFA összetevői közül különösen a dokozahexaénsav érzékeny a fertőzésre. Az MDA szintje a lipidperoxidáció mutatója, de nem csak infekcióban. Negatívan korrelál a vitalitással és motilitással. Az említett antioxidánsoktól értéke csökken (9, 11).

A fehérvérsejtek – a középrész mitokondriumaiban – a spermiumokat is ROS-termelésre serkentik, amittől az akrozin is károsodik. Ez utóbbi azzal szemléltethető, hogy a zselatinra helyezett spermiumok feje körül a zselatinolízis mértéke jelentősen csökken (8, 12). ROS nemcsak infekcióban képződik, hanem pl. fagyasztáskor (krioprezerváció) is a károsodott spermiumokban (9).

A már említett DNS-fragmentáció természetes és *in vitro* megtermékenyítéskor nem jelent veszélyt, mivel ezek membránja annyira károsodott, hogy nem képesek fertilizációra, viszont intracitoplazmatikus spermiuminjektáláskor (ICSI) – amikor elmarad az a kroszóma reakció – bejuttathatjuk a hibás DNS-t a petesejtbe.

Az infekció által elindított soklépéses folyamat minden tagja (granulociták–ROS–PUFA–MDA–8-izoprosztán–akrozin stb.) közvetve az infekció és a spermaminőség markere is. A ROS-szint kemiluminiscenciás módszerrel mérhető (13).

ELASZTÁZ

A proteáz csoportba tartozó hidrolizáló enzim. A spermaplazma citokin koncentrációja genitális infekcióban megnő, mire aktiválódnak a fehérvérsejtek (granulociták vagy PMN-sejtek) és nagy mennyiségű elasztázt termelnek. A „csendes bakteriális gyulladások” markere a genitális traktusban. Értéke *pozitív* korrelációban van a peroxidázpozitív fehérvérsejtek és az IL-6 koncentrációjával, de más gyulladásos markerekkel és az életkorral is, vagyis leukocytospermiaiban megnő a spermaplazmabeli koncentrációja. Általában magasabb a szintje az infertilisekben, mint a fertilisekben, ami az infekció fertilitást rontó hatására utal. *Negatív* a korreláció az ejakulátum térfogatával, a spermiumok vitalitásával, progresszív gyors mozgásával és az ép DNS-ű spermiumok arányával. Inhibitora az SLPI. Meghatározására alkalmas módszer: immunoassay. Jó a terápia nyomon követésére (14).

INTERLEUKINOK (IL-6, IL-8)

Az IL-6 citokin jellegű glikoprotein, 22–30 kD molekulatömeggel. A citokinek az immunrendszer hírvivői. Baktériumtoxinok hatására limfoid és nem limfoid sejtek egyaránt termelik, pl. makrofágok, T-sejtek, monociták, hízósejtek, epithelsejtek. Főleg a prostatából ered. Szintje nemcsak genitális fertőzésben magas, hanem pl. tumor miatt is, ezért specifitása alacsony. *Pozitív* korrelációban van az ejakulátum fehérvérsejt-koncentrációjával, az elasztázzal, a spermaminőség paramétereivel. A MAGI markere. Hasonló az IL-8,



GYNO7/003

GYNOFLOR

hüvelytabletta



MEDICO UNO

amely szintén szignifikánsan pozitívan korrelál a fehér vérszámával (fvs/ml, $p < 0,0001$, fvs/ejac, $p < 0,0001$), negatívan a spermaminőséggel E két interleukin egymással is pozitív korrelációban van (15). Meghatározásuk módszere: ELISA.

FRAKTALGIN (FRACTALGINE)

A citokinek alcsoportját képező kemokinek közé tartozik, amelyek a spermaplazmában kemotaxist irányítanak. Endothel sejtek termelik, de az immunrendszer szinte minden sejtje képes kemokineket előállítani. Oldható kis fehérjemolekulái serkentik és irányítják a fehérvérsejtek migrációját, a gyulladás helyén való akkumulációjukat. Az asthenozoospermia markere: pozitívan korrelál a motilitással. Nincs korrelációban a leukocytospermia mértékével. Meghatározásának módszere: Western blotting analysis (16).

SZEKRÉCIÓS LEUKOCITAPROTEÁZ-INHIBÍTOR (SECRETORY LEUKOCYTE PROTEASE, SLPI)

Epithelsejtek (prostata, epididymis, vesicula seminalis) által termelt polipeptid (11,7 kD). Lokalizálása immunhisztokémiai módszerrel lehetséges. A leukociták proteolitikus enzimeitől (elasztáz) védi a kötőszövetet. Vírusellenes (HIV-1) hatása is van. Az elasztázzal 1:1 arányú komplexet képez. Szervezetünk több helyén (pl. cervix, légutak) van gyulladáscsökkentő szerepe. Értéke szignifikánsan magasabb fertilis donorokban, mint leukocytospermiaszakban. Pozitív a korreláció az SLPI-titer és a spermiummotilitás között. Elképzelhető, hogy a leukocytospermias infertilis férfiak kezelésére fogják használni. Meggátolja, hogy az elasztáz károsítsa a spermiummotilitást és az akroszómareakciót. Az elasztáz/SLPI hányados is lehet az infekció jó markere. Meghatározásának módszere: ELISA, Western blotting analysis (17).

A genitális infekciókról nagyon sokat tudunk, újabb és újabb markerek „születnek”, de nem szabad eltitkolni, hogy a szakirodalomban gyakoriak az ellentmondó kutatási eredmények is, részben az eltérő mérési módszerek és kísérleti körülmények miatt (környezet, táplálkozás), részben bizonyos szempontok (pl. a dohány-

zás is ROS-t generál és fokozza a DNS-fragmentációt) figyelmen kívül hagyása miatt.

IRODALOM

1. Keck C., Gerber-Schäfer C. et al: Seminal tract infection: impact on male fertility and treatment options. Hum. Reprod. Update 1998; 4: 891–903.
2. Rintala M. A. M. Grénman S. et al: Detection of high-risk HPV DNA in semen and its association with the quality of semen. Int. J. of STD&AIDS 2004; 15: 740–743.
3. Hamdad-Daoudi F., Petit J., Eb F.: Assessment of Chlamydia trachomatis infection in asymptomatic male partners of infertile couples. J. Med. Mikrobiol. 2004; 53: 985–990.
4. Krause W., Bohring C. et al: Cellular and biochemical markers in semen indicating male accessory gland inflammation. Andrologia 2003; 35: 279–282.
5. Satta A., Stivala A., Garozzo A. et al: Experimental Chlamydia trachomatis infection causes apoptosis in human semen. Hum. Reprod. 2006; 21: 134–137.
6. Ricci G., Presani G., Guaschino S. et al: Leukocyte detection in human semen using flow cytometry. Hum. Reprod. 2000; 15: 1329–1337.
7. Vicari E.: Effectiveness and limits of antimicrobial treatment on seminal leukocyte concentration and related reactive oxygen species production in patients with male accessory gland infection. Hum. Reprod. 2000; 15: 2536–2544.
8. Zalata A. A., Ahmed A. H. et al: Relationship between acrosin activity of human spermatozoa and oxidative stress. Asian J. Androl. 2004; 6: 313–318.
9. Agarwal A., Prabakaran S. A., Said T. M.: Prevention of oxidative stress injury to sperm. J. Androl. 2005; 26: 654–660.
10. H. Tavilani, M. Doosti, H. Saeidi: Malondialdehyde levels in sperm and seminal plasma of asthenozoospermic and its relationship with semen parameters. Clin. Chim. Acta 2005; 356: 199–203.
11. Martinez P., Droverbio F., Carneio M. I.: Sperm lipid peroxidation and pro-inflammatory cytokines. Asian J. Androl. 2007; 9: 102–107.
12. Henkel R., Müller C. et al: Acrosin activity of human spermatozoa by means of a simple gelatinolytic technique: a method useful for IVF. J. Androl. 1995; 16: 272–277.
13. Sanocka D., Kurpisz M.: ROS and sperm cells. Reprod. Biol. Endocrinol. 2004; 2: 12–18.
14. Zorn B., Virant-Klun I., Vrtovec H.: Semen granulocyte elastase: its relevance for the diagnosis and prognosis of silent genital tract inflammation. Hum. Reprod. 2000; 15: 1978–1984.
15. Kopa Z., Wenzel J., Papp G. K., Haidl G.: Role of granulocyte elastase and interleukine-6 in the diagnosis of male genital tract inflammation. Andrologia 2005; 37: 188–194.
16. Qing Zhang, Koichiro Shimoya et al: Detection of fractalkine in human seminal plasma and its role in infertile patients. Hum. Reprod. 2002; 17: 1560–1564.
17. Moriyama A., Shimoya K., Kawamotou A. et al: Secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) concentrations in seminal plasma: SLPI restores sperm motility reduced by elastase. Mol. Hum. Reprod. 1998; 4: 946–950.

Érkezett: 2007. szeptember 17. Közlésre elfogadva: 2007. október 17.