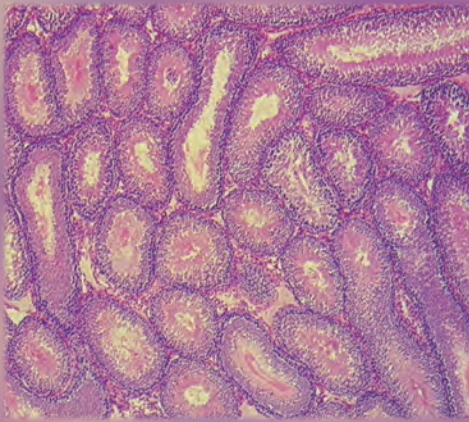


EXPERIMENTELLE *ESCHERICHIA (E.) COLI* EPIDIDYMITIS BEI RATTEN

Auswirkung der Antibiotikatherapie auf die Begleitorchitis
unter besonderer Berücksichtigung der Spermatogenese

IREM CEYLAN
geb. Ikican



INAUGURALDISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Medizin
des Fachbereichs Medizin der
Justus-Liebig-Universität Gießen



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung des Autors oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2009

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Author or the Publishers.

1st Edition 2009

© 2009 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen
Printed in Germany



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890
email: redaktion@doktorverlag.de

www.doktorverlag.de

**Experimentelle *Escherichia (E.) Coli* Epididymitis bei Ratten –
Auswirkung der Antibiotikatherapie auf die Begleitorchitis unter
besonderer Berücksichtigung der Spermatogenese**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Medizin
des Fachbereichs Humanmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von

Irem Ceylan, geb. Ikican

aus Aschaffenburg

Gießen 2009

Aus dem Medizinischen Zentrum für Chirurgie, Anaesthesiologie und Urologie

Klinik und Poliklinik für Urologie und Kinderurologie

Abteilung Urologie

des Fachbereichs Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen

Direktor: Prof. Dr. med. Wolfgang Weidner

Gutachter: PD Dr. Wagenlehner

Gutachter: Frau Prof. Dr. Füssle

Tag der Disputation: 30.11.2009

Meinen Eltern und meiner Familie in Dankbarkeit gewidmet

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung - Literaturübersicht

1.1. Das Krankheitsbild der Epididymo-Orchitis

1.1.1. Klassifikation der Orchitis nach Ätiopathogenese

1.1.2. Komplikationen und Konsequenzen für die Fertilität

1.1.3. Pathomorphologie der Epididymo-Orchitis

1.1.4. Klinisches Bild

1.1.5. Diagnose und Differentialdiagnose

1.1.6. Therapie

1.2. Spermatogenese

1.2.1. Anatomie und Physiologie der männlichen Geschlechtsorgane des Menschen

1.2.2. Spermatogenese des Menschen

1.2.3. Anatomie und Physiologie der Geschlechtsorgane der Ratte

1.2.4. Spermatogenese der Ratte

1.2.5. Fertilitätsstörungen des Menschen

1.2.6. Quantitative und qualitative Beschreibung der Spermatogenese

2. Fragestellung

3. Material und Methodik

3.1. Versuchstiere

3.1.1. Erreger

3.1.2. Infektionstechnik

3.1.3. Antibiotikum

3.1.4. Tötungszeitraum und Organentnahme

3.2. Histologische Aufarbeitung der Hoden

3.2.1. Herstellung der Paraffinblöcke

3.2.2. Hämatoxylin-Eosin-Färbung

3.2.3. Immunhistochemische Färbung

3.3. Bildgebende Verfahren

3.4. Quantifizierung der Entzündung

- 3.4.1. Auszählung der Granulozyten und Scorebildung
- 3.4.2. Auszählung der B- und T-Lymphozyten und Scorebildung
- 3.4.3. Auszählung der Makrophagen und Scorebildung
- 3.4.4. Bildung eines Gesamtscores der Entzündungsparameter
- 3.4.5. Vergleichsgruppen

3.5. Quantifizierung der Spermatogenese

- 3.5.1. Auszählung der Spermatogenesestadien und Scorebildung
- 3.5.2. Vergleichsgruppen

3.6. Statistik

4. Ergebnisse

4.1. Orchitis

- 4.1.1. Ausprägungsgrad der Orchitis im Seitenvergleich
- 4.1.2. Ausprägungsgrad der Orchitis in Abhängigkeit der Therapie
- 4.1.3. Ausprägungsgrad der Orchitis im Zeitverlauf

4.2. Spermatogeneseschädigung

- 4.2.1. Ausprägungsgrad der Schädigung im Seitenvergleich
- 4.2.2. Ausprägungsgrad der Schädigung in Abhängigkeit der Therapie
- 4.2.3. Ausprägungsgrad der Schädigung im Zeitverlauf

4.3. Wechselwirkung zwischen Entzündung und Spermatogenese

5. Diskussion

6. Zusammenfassung

7. Literaturverzeichnis

8. Anhang

Histologische Abbildungen

Tabellen

1 Einleitung

In etwa 15% der männlichen Infertilität sind Infektionen und Entzündungen des männlichen Genitaltraktes ursächlich (WORLD HEALTH ORGANIZATION 1987; NIESCHLAG E, 2000; DOHLE GR et al. 2005). Infektion und Entzündung des Hodens und Nebenhodens haben ein signifikant höheres Risiko die männliche Fertilität negativ zu beeinflussen als die Prostatovesikulitis oder Urethritis (WOLFF, H. 1995; HAIDL G. et al, 2008). Die Epididymo-Orchitis gilt somit als eine der häufigsten infektiösen oder entzündlichen Ursachen für männliche Fertilitätsstörungen. In den USA werden mehr als 600.000 Arztbesuche pro Jahr der Epididymitis zugeschrieben (LUDWIG, M. 2002). Betroffen sind Männer aller Altersgruppen, es existieren jedoch Altersgipfel bei Männern im jungen geschlechtsreifen Alter und bei älteren Männern (über 35 Jahre). Dies erklärt sich durch die überwiegend infektiologisch geprägte Ätiopathogenese (siehe Tabelle 1). Im Vordergrund stehen dabei die kanalikulär ascendierenden Infektionen durch sexuell übertragbare Erreger und Harnwegsinfektionserreger. Existierende Leitlinien (siehe Tabelle 4) orientieren sich an diesen ätiopathogenetischen Modellen und konzentrieren sich auf eine initial empirische, erregerorientierte antimikrobielle Therapie.

Trotz einer empirisch optimierten Therapiestrategie kann die Epididymo-Orchitis zu einer zumindest temporär herabgesetzten Ejakulatqualität führen (WEIDNER et al. 1990) und hat damit negative Auswirkung auf die Fertilität. Auch ein kompletter persistierender Spermatogenese-arrest nach Epididymo-Orchitis durch *Neisseria gonorrhoeae* wurde histologisch in einer kleinen Fallzahl nachgewiesen (OSEGBE 1991). Der Einfluss einer optimierten Therapie auf die Entwicklung einer Infertilität konnte bisher nur unzureichend quantifiziert werden, da in der Regel eine histologische Beurteilung der Spermatogenese bei diesem Krankheitsbild nicht möglich ist. Eine Evaluierung der Spermatogenese bei der Epididymo-Orchitis bedarf deswegen tierexperimenteller Studien.

Folgerichtig hat die Gießener klinische Forschergruppe „Male factor infertility“ ein tierexperimentelles Modell einer durch *E. coli* ausgelösten, infektiösen Epididymo-Orchitis entwickelt, um den Einfluss einer standardisierten antimikrobiellen Therapie auf die Erregerpersistenz, den Ausprägungsgrad der lokalen Entzündung und die Spermatogenese quantitativ und qualitativ zu erfassen (LUDWIG, M. et al. 1997, 2002).

Klassifikation	Ätiologie	Pathomechanismus	Prädisponierende Erkrankung	Prädisponierendes Alter
Infektiöse Ursachen	STD-Erreger: - <i>Neisseria gonorrhoeae</i> - <i>Chlamydia trachomatis</i>	Aszendierend-kanalikulär	Urethritis	Männer 20-40 Jahre
	Harnwegsinfektions-Erreger: - Enterobacteriaceae - Pseudomonaden - Enterokokken	Aszendierend-kanalikulär	Blasenentleerungsstörung Bakterielle Prostatitis	Männer >40 Jahre
	Tuberkulöse Epididymitis - Mykobakterien	Hämatogen	Tuberkulose	Jahre nach Primärstadium
	Septikämieerreger - z.B. Staphylokokken, Pneumokokken, Brucellen	Hämatogen	Septikämie	
	Urinogen-chemisch - Verletzungen des Sphinkters - neurogen	z.B. nach transurethraler Resektion der Prostata funktionelle subvesikale Obstruktion	z.B. Benigne Prostatohyperplasie z.B. neurogene Harnblase	Männer >40 Jahre
Nichtinfektiöse Ursachen	Bei Allgemeinerkrankungen	Oft unbekannt	M. Behçet (bis zu 19%)	
	Nach Vasektomie	"blow-out" Verletzung des Nebenhodengangs	Vasektomie	
	Medikamenteninduziert z.B. Amiodaron	Unbekannt	Herzrhythmusstörungen	

Tabelle 1: Ätiopathogenese der Epididymo-Orchitis

1.1. Das Krankheitsbild der Epididymo-Orchitis

1.1.1. Klassifikation der Orchitis nach Ätiopathogenese

Die aktuelle Klassifikation der infektiösen Epididymo-Orchitis richtet sich nach ätiopathogenetischen Prinzipien und ist in Tabelle 2 zusammengefasst.

Unspezifische Orchitis	Spezifische Orchitis	Virale Orchitis
Akute bakterielle Epididymo-Orchitis <ul style="list-style-type: none">- <i>Neisseria gonorrhoeae</i>- <i>Chlamydia trachomatis</i>- Enterobakterien	Spezifisch granulomatöse Orchitis <ul style="list-style-type: none">- Tuberkulose- Syphilis- Brucellose	- Mumpsorchitis - Orchitis durch Coxsackie B Virus
Kindliche unspezifische bakterielle Orchitis <ul style="list-style-type: none">- Pneumokokken- Salmonellen- Klebsiellen- <i>Hämophilus influenza</i>		
Unspezifisch-granulomatöse Orchitis des Erwachsenen		
Unspezifisch-chronische Epididymo-Orchitis		

Tabelle 2: Klassifikation der Orchitis nach WEIDNER 1998, A

Die häufigste Form der Orchitis stellt die Epididymo-Orchitis als Komplikation einer Nebenhodenentzündung dar. Diese Form kommt 5-10 mal häufiger vor als die übrigen Formen der Orchitis (WEIDNER 1998, A).

Bei einer akuten Epididymitis liegt in zwei Dritteln der Fälle eine Spermatogenesestörung auf dem Boden einer Begleitorchitis vor, die sich in Form eines Oligo-Asthenoteratozoospermie (OAT)-Syndroms äußern kann (LUDWIG, M. et al.1994, BERGER 1984).

Trotz effektiver erregerspezifischer Therapie kann die Epididymo-Orchitis über eine testikuläre Inflammation mit Ödembildung zu einer Hodenfibrose mit Schädigung bis zur Zerstörung des Keimepithels mit Verlust der Spermatogenese führen (WEIDNER 1998, A).

1.1.2. Komplikationen und Konsequenzen für die Fertilität

Neben der chronischen Epididymitis ist die Entstehung eines Nebenhodenabszesses eine weitere Komplikation der akuten Epididymitis. Von besonderem Interesse in diesem Zusammenhang sind die Konsequenzen für die männliche Fertilität. Diskutiert wird hierbei zum einen ein entzündlicher Verschluss der Samenwege, zum anderen eine direkte testikuläre Schädigung der Spermatogenese. Eine Epididymitis, Orchitis oder Epididymo-Orchitis kann durch Störung der Spermatogenese und/oder des Spermatozoentransports damit zu einer Einschränkung der männlichen Fertilität führen (BOECKMANN et JAKSE 1997).

Eine Verschlussazoospermie resultiert hierbei nach einer beidseitigen Obstruktion der ableitenden Samenwege.

Bei der testikulären Schädigung unterscheidet man zum einen die Störung in der exokrinen Funktion des Hodens (Störung der Spermio-genese) und zum anderen die Störung der endokrinen Hodenfunktion (Störung der Androgenproduktion).

Es konnte gezeigt werden, dass es im Rahmen der Entzündung bei der Orchitis zu einer Zerstörung des Keimepithels und zu einem bindegewebigen Umbau der Hodenarchitektur kommt. Die daraus resultierende Hodenfibrose kann somit zu einem Spermatogeneseverlust und zur Oligo- oder Azoospermie führen (WEIDNER, SCHIEFER 1998).

NILSSON et al. zeigte bereits 1968 bei Patienten mit akuter nichtspezifischer Epididymitis eine inflammatorische Zellreaktion in den Testes bei 16 von 22 untersuchten Patienten. In der Mehrzahl der Fälle war eine Beeinträchtigung der Spermatogenese nachzuvollziehen. Auch nach zwei bis drei Jahren konnten ipsilateral noch Hodenatrophien nachgewiesen werden. Damals hat er bewiesen, dass eine Azoospermie nicht nur durch einen obstruktiven Prozess bei Epididymitis verursacht wird, sondern auch durch direkte Schädigung des Keimepithels.

NIKKANEN untersuchte 1979 die asymptomatische, chronische Infektion der akzessorischen Geschlechtsdrüsen des Mannes und die daraus resultierende Infertilität. Dabei stellte er fest, dass sämtliche Spermaparameter bei Patienten mit einer asymptomatischen Infektion herabgesetzt waren. Nach Diagnose der Infektion erfolgte für die Dauer von vier Wochen eine Therapie mit einer Sulfonamid-Trimethoprim-Kombination oder für die Dauer von zwei Wochen mit einem Tetrazyklin. Als Ursache für die herabgesetzte Motilität der Spermien trotz Therapie spekulierte er, dass eventuell unbekannte Wirkungen von Sulfonamiden und Tetrazyklinen dafür verantwortlich sein könnten.

WEIDNER demonstrierte 1990, dass trotz erregergerechter Therapie einer akuten einseitigen Epididymitis bei 70 Männern mit Ofloxacin in der Mehrzahl der Fälle bei Nachweis abszedierender Veränderungen im Nebenhoden ein progredienter Verlauf nicht verhindert werden konnte. Außerdem konnte er eine Verminderung der Spermatozoendichte bis hin zur Azoospermie, ausgeprägte Oligozoospermien, Motilitätsstörungen und Teratozoospermien beschreiben, wofür er die entzündliche Mitreaktion des Hodens verantwortlich machte. Langfristige sonographische Nachuntersuchungen konnten zeigen, dass die Begleitorchitis zu einer testikulären Atrophie geführt hat. Dabei diskutierte er entzündlich bedingte, toxische und autoallergische Schädigungen des Hodenparenchyms, die gegebenenfalls bis zu einer irreversiblen Tubulussklerose führen könnten. Direkte, immobilisierende oder agglutinierende Wirkungen der Erreger auf die Spermien könnten eventuell die Motilitätsminderung der Spermien erklären (WEIDNER 1990, WEIDNER 1998 A).

OSEGBE untersuchte 1991 die testikuläre Funktion nach unilateraler bakterieller Epididymo-Orchitis an 30 Patienten, die mit Cefotaxim i.m. behandelt wurden. Im akuten Stadium der Infektion waren ein Drittel der Patienten azoosperm. Die durchschnittliche Spermienzahl betrug zu diesem Zeitpunkt 18 Millionen/ml. Nach einer Woche antibiotischer Behandlung stieg die Spermienzahl auf 25 Millionen/ml an. Sechs Wochen später sank die durchschnittliche Spermienzahl der Patienten auf 5,4 Millionen/ml ab. OSEGBE ging davon aus, dass das inflammatorische Ödem, welches im Hoden im akuten Stadium nachgewiesen wurde, das kanalikuläre System verengt haben könnte und somit zu einer initialen Azoospermie geführt hat. Durch die antibiotische Therapie und Auflösung des Ödems kam es eine Woche nach Therapie zur Entlastung des kanalikulären Systems, was folglich zu einem Anstieg der Spermienzahl führte. Der zweite Abfall der Spermienanzahl in der sechsten Woche nach Therapiebeginn repräsentierte seiner Meinung nach dann den tubulären Schaden des Hodens trotz initialer Antibiotikatherapie. Bezüglich der Prognose der Epididymo-Orchitis stellte OSEGBE in seiner Arbeit fest, dass nach zwei Jahren bei 40% der Patienten immer noch eine temporäre Oligospermie, bei 33,3% eine persistierende Oligospermie und bei 26,7% sogar eine persistierende Azoospermie nachgewiesen werden konnte. D.h. langfristig gesehen erleiden ca. 60% der Patienten eine Sterilität bzw. Subfertilität (OSEGBE 1991).

Eine Studie von LUDEWIG zeigte 1995, dass Furazolidon (ein synthetisches Nitrofuranderivat) bei geschlechtsreifen Ratten zu einer Depopulation des Keimepithels führte und die Spermatogenese auf der Stufe der primären Spermatozyten stoppte. Somit

könnten die, bei einer Infektion eingesetzten antimikrobiellen Substanzen, durch toxische Effekte auf die Spermatogenese ebenfalls zu einer Fertilitätsstörung beitragen.

1.1.3. Pathomorphologie der Orchitis

Das pathomorphologische Bild ist bei den verschiedenen Orchitisformen unterschiedlich. So kann man bei einer akuten, durch Enterobakterien induzierten Begleitorchitis ein tubulär interstitielles Entzündungsbild erkennen. Die Entzündung breitet sich kanalikulär aus. Im weiteren Verlauf kann es zu Mikroabszedierungen oder Fistelbildung kommen.

Eine Begleitorchitis, verursacht durch Chlamydien, ist geprägt von einer destruktiven und epitheloid-proliferativen Entzündung, in der periduktale und intraepitheliale Infiltrationen von Entzündungszellen sichtbar sind.

Granulomatöse Orchitisformen sind meist begleitet mit lymphoplasmazellulärer Infiltration und Riesenzellen, die zu einer kompletten Hodenfibrose führen können.

Typische Kennzeichen für eine Mumpsorchitis sind rundzellige und gleichzeitig auch granulozytäre Infiltrationen (WEIDNER, 1998 A).

Aus pathomorphologischer Sicht erscheint die Ausheilungsphase der Orchitis von besonderer Bedeutung. Hier tritt die Zerstörung des Keimzellepithels durch bindegewebigen Umbau in den Vordergrund. Folglich kann dieser Prozess zu einer Hodenfibrose mit erheblichem Spermatogeneseausfall führen. Dies führt zu einer verminderten Spermienanzahl oder zum völligen Verlust reifer Spermien (Oligo- bzw. Azoospermie). Bei diesem Phänomen imponiert die Spermatogenese im Lichtmikroskop als eine „bunte Atrophie“ (Samenkanälchen mit völlig intakter Spermatogenese bis zu Kanälchen mit Sertoli-Cell-Only (SCO)-Tubuli (WEIDNER, 1998 A).

1.1.4. Klinisches Bild

Das klinische Bild der Epididymo-Orchitis ist charakterisiert durch eine akute bis subakute einseitige, schmerzhafte Schwellung von Hoden und Nebenhoden. Im weiteren Verlauf kommt es zu einer Ödembildung und Rötung der Skrotalhaut.

Die Mumpsorchitis tritt postpubertal oft beidseits und ca. drei bis zehn Tage nach einer bestehenden Parotitis auf, die häufig mit Fieber assoziiert ist. Die Sicherung der Diagnose erfolgt dann mit dem Nachweis spezifischer Ig-M Antikörper (WEIDNER 1998, A).

Die granulomatöse Orchitis ist geprägt von ihrem langsamen Verlauf mit einseitiger, schmerzloser Hodenschwellung und betrifft hauptsächlich Männer zwischen 40 und 70

Jahren. Diese Form der Orchitis kann nur mit einer Hodenbiopsie diagnostiziert werden (WEIDNER, SCHIEFER 1998).

Zu Beginn einer Epididymo-Orchitis kann der Nebenhoden noch vom Hoden abgegrenzt werden. Im Spätstadium ist die palpatorische Abgrenzung von Hoden und Nebenhoden nicht mehr möglich (RÜBBEN 1993).

1.1.5. Diagnose und Differentialdiagnose

Die wichtigsten Differentialdiagnosen der Orchitis bzw. Epididymo-Orchitis stellen abgesehen von Hodentraumata – die eine entsprechende Anamnese aufweisen - die Samenstrangtorsion, Hydatidentorsion und selten der Hodentumor dar und sind in Tabelle 3 wiedergegeben. Bezüglich der Epididymo-Orchitis und ihrer weiteren erregerspezifischen Therapie gilt es zu klären, ob die Infektion als Folge eines Harnwegsinfektes entstanden ist oder als Folge einer Urethritis durch sexuell übertragbare Keime hervorgerufen wurde. Hierbei sollten das Alter und die Anamnese des Patienten berücksichtigt werden.

Typische Symptome der durch sexuell übertragbare Erreger verursachten Urethritis (Gonokokken, Chlamydien) sind Ausfluss aus der Harnröhre (klar bis putride, lässt keinen Rückschluss auf die Ätiologie zu), Brennen in der Harnröhre, Dysurie und ein abgeschwächter Harnstrahl. Die Diagnostik der Urethritis beruht auf den klinischen Symptomen, dem Entzündungsnachweis im Harnröhrenkompartiment (Nachweis von polymorphkernigen Leukozyten im Urethralabstrich oder Ersturin) und dem mikrobiologischen Erregernachweis. Heutzutage wird als goldener Standard der Genomnachweis mittels Amplifikationsverfahren durchgeführt.

Typische Symptome der durch Harnwegsinfektion verursachten Epididymo-Orchitiden sind neben der Symptomatik der Epididymo-Orchitis, Dysurie, Algurie, Pollakissurie und imperativer Harndrang. Hier werden Erythrozyten und Leukozyten im Mittelstrahlurin nachgewiesen. Ätiologisch sind die typischen Harnwegsinfekterreger, in erster Linie *Escherichia coli* und andere Enterobakterien relevant.

1.1.6. Therapie

Die Therapie der Orchitis erfolgt empirisch nach ätiologischen Gesichtspunkten und entspricht weitgehend der Behandlung der Epididymitis. Einen Überblick über die antibiotischen Therapierichtlinien gibt Tabelle 4.

Bei fraglicher Ätiopathogenese der Epididymo-Orchitis empfiehlt Horner in der „European guideline for the management of epididymo-orchitis and syndromic management of acute scrotal swelling“ die 14 tägige Gabe von Ofloxacin 2x200 mg täglich.

Neben der antibiotischen Therapie empfiehlt die European Society for Infection in Urology (ESIU) eine Arbeitsgruppe der European Association of Urology (EAU) Bettruhe und bei jungen Männern eine antiphlogistische Therapie mit 40 mg Methylprednisolon pro Tag (Dosisreduktion um die Hälfte jeden zweiten Tag). Nicht zu vergessen ist, dass beim Nachweis sexuell übertragbarer Erreger alle Geschlechtspartner mitbehandelt werden sollten.

Die prophylaktische Mumpsimpfung wird bei Kleinkindern nach dem 1. Lebensjahr empfohlen, um die Parotitis und die komplizierende Orchitis zu verhindern. Bei postpubertär aufgetretener Erkrankung oder aber schon beim Verdacht einer Mumpsorchitis könnte die systemische Gabe von alpha-2b-Interferon das Krankheitsgeschehen günstig beeinflussen (WEIDNER 1998, A). Die frühere Empfehlung der Kortikosteroidgabe scheint bei der Mumpsorchitis und bei chronisch unspezifischen Orchitiden nicht anzusprechen.

Weiteres Vorgehen bei der Virusorchitis sind: Bettruhe, Hodenhochlagerung und Kühlung. Die Gabe von Antipyretika und Antiphlogistika wird empfohlen ist aber in ihrer Wirksamkeit nicht belegt.

Die unspezifisch granulomatöse Orchitis wird üblicherweise mit der Semikastration therapiert. Die Behandlung der spezifischen granulomatösen Orchitiden erfolgt durch antibiotische Therapie der zugrunde liegenden bakteriellen Infektion (WEIDNER 1998 A).

	Typisches Alter	Befund	Sonographie	Schmerz	Farbduplex
Hodentorsion	kindliches / jugendliches Alter	Hodenhochstand, Nebenhoden atypisch gelegen, neg. Prehn- Zeichen	Anfangs homogen	++ peritonealer Reiz (Erbrechen)	Fehlender arterieller Impuls
Hydatidentorsion	10.-13. LJ	„Blue dot sign“, derbes palpables Knötchen meist am oberen Hodenpol	Homogen, evtl. Begleithydrozele, sichtbare Hydatide	Attackenhafte Schmerzen	Normale Hodendurchblutung
Akute Epididymitis	> 20. LJ	Nebenhoden vergrößert, druckdolent und überwärmt; anfangs noch vom Hoden abgrenzbar, pos. Prehn- Zeichen	Hoden homogen, Nebenhoden inhomogen	++	Vermehrte Perfusion des Nebenhodens
Epididymo-Orchitis	> 20. LJ	Hoden und Nebenhoden deutlich verdickt zu tasten, hart und druckdolent; pos. Prehn-Zeichen	Ödematös, aufgelockerter, jedoch homogener Hoden; Nebenhoden inhomogen	++	Normale Hodendurchblutung
Hodentumor	20.-35. LJ	Langsam wachsender, derber Tumor; jedoch meistens kein akuter Schmerz	Echoreiche / echoarme Parenchymveränderunge n	(+)	Normale Hodendurchblutung

Tabelle 3: wichtigste Differentialdiagnosen des akuten skrotalen Schmerzes

<u>Vermuteter Erreger</u>	<u>Leitlinie EAU 1. Wahl</u>	<u>Alternativvorschlag EAU</u>	<u>European guideline for the management of epididymo-orchitis and syndromic management of acute scrotal swelling (HORNER 2001)</u>	<u>Vorschlag CDC (2006)</u>
<u>N. gonorrhoeae</u>	-Kein Vorschlag	-Kein Vorschlag	-Doxycyclin 2x100mg/Tag p.o. mind. 14 Tage oder -Ofloxacin 2x200 mg/Tag p.o. mind. 14 Tage bei Resistenz gegenüber Tetrazyklinen plus -Ciprofloxacin 500 mg p.o. oder -Ceftriaxon 250mg i.m. als Einmaldosis	-Ceftriaxon 250 mg i.m. als Einmaldosis oder Spectinomycin 2000 mg i.m. als Einmaldosis
<u>C. trachomatis</u>	-Fluorochinolone mit guter Aktivität gegen <i>C. trachomatis</i> (Ofloxacin, Levofloxacin)	-Doxycyclin 2x100 mg p.o. für mind. 14 Tage bei bewiesener <i>C. trachomatis</i> Infektion -Makrolide	Doxycyclin 2x100mg/Tag p.o. mind. 14 Tage oder Ofloxacin 2x200 mg/Tag p.o. mind. 14 Tage bei Resistenz gegenüber Tetrazyklinen	-Azithromycin 1000 mg p.o. als Einmaldgabe -Doxycyclin 2x100 mg p.o. für mind. 10 Tage
<u>Enterobacteriaceae</u>	-Fluorochinolone	-Kein Vorschlag	-Ofloxacin 2x200 mg/Tag p.o. mind. 14 Tage oder -Trimethoprim 2x200 mg/Tag p.o. mind. 14 Tage	-Ofloxacin 2x300 mg p.o. für 10 Tage oder -Levofloxacin 1x500 mg p.o. für 10 Tage

Tabelle 4: Therapierichtlinien der Epididymo-Orchitis nach der European Association of Urology 2006 (EAU), der European guideline for the management of epididymo-orchitis and syndromic management of acute scrotal swelling (HORNER 2001) und den US-amerikanischen Vorschlägen des CDC 2006 (Centers for Disease Control)

1.2. Spermatogenese

Als Spermatogenese wird der Prozess der Entwicklung von der Spermatogonie bis zum reifen Spermium bezeichnet. Die Teilung und Differenzierung der Keimzellen erfolgt nach einem komplexen Schema. Im Wesentlichen prägen drei verschiedene Phasen die Keimzellreifung:

- Bildung von diploiden Keimzellen (Spermatogonien) durch mitotische Proliferation und Differenzierung
- Bildung von tetraploiden Keimzellen (Spermatozyten) durch meiotische Reifeteilung
- Differenzierung und Transformation der haploiden Keimzellen (Spermatiden) zu Spermien (Spermiogenese)

1.2.1. Anatomie und Physiologie der männlichen Geschlechtsorgane des Menschen

Die männlichen Geschlechtsorgane bestehen aus dem Hoden, Nebenhoden, Samenleiter und den akzessorischen Geschlechtsdrüsen (Prostata, Vesicula seminalis und Cowpersche-Drüsen), sowie dem männlichen Glied (Penis) und dem Hodensack (Skrotum).

Die Samenzellen werden im Hoden produziert und entwickeln sich dort in den Tubuli seminiferi weiter. Über die Ductuli efferentes verlassen die Samenzellen den Hoden und gelangen in den Nebenhodengang (Ductus epididymitis). Dieser ist auch gleichzeitig Speicherplatz für die Samenzellen. Der Nebenhodengang geht dann über in den Ductus deferens, der durch den Leistenkanal ins kleine Becken zieht. Die Samenbläschen (Vesicula seminalis) münden zusammen mit den Samenleitern und den Ausführungsgängen der Prostata am Colliculus seminalis direkt in die Harnröhre. Über diese können die Samenzellen dann den Körper verlassen.

Der Hoden des Menschen hat einen Durchmesser von etwa 30 mm und ein Volumen von 20-25 ml. Zusammen mit dem Nebenhoden wiegt er 20-30 g.

Der Hoden ist von der Tunica albuginea, die aus einem derb-faserigen Bindegewebe besteht, umgeben. Für die Spannung der Kapsel sorgen glatte Muskelzellen.

Am Mesenterium testis treten Gefäße, Nerven und samenableitende Wege ein und aus.

Der Hoden ist durch bindegewebige Septen (Septula testis) in Läppchen (Lobuli testis) eingeteilt, die das Hodenparenchym bilden. Diese Septen verlaufen von der Tunica albuginea radiär zum Mesenterium testis und bilden etwa 370 Lobuli. In den Septula testis verlaufen Blut- und Lymphgefäße.

Das Hodenparenchym ist unterteilt in das interstitielle Kompartiment und die Tubuli seminiferi (WEINBAUER et al. 1996).

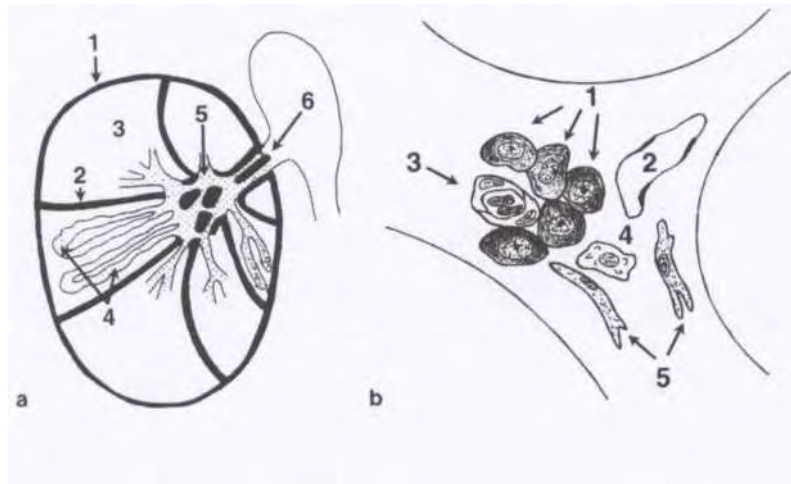


Abbildung 1: Aufbau des Hodens (aus BERGMANN 1998)

a, Generelle Organisation:

1 Tunica albuginea, 2 Septulum testis,
3 Lobulus testis, 4 Tubulus seminiferus,
5 Rete testis, 6 Ductulus efferens

b, Interstitium:

1 Leydig-Zellen, 2 Lymphgefäß,
3 Blutgefäß, 4 Makrophage,
5 Fibrozyten

Das tubuläre Kompartiment besteht aus den peritubulären Zellen (Myofibroblasten mit der Fähigkeit von spontanen Kontraktionen des Samenkanälchens zum Abtransport der fertigen Samenfäden), den Sertoli-Zellen und den Keimzellen.

Die Wand der Tubuli seminiferi contorti besteht aus einer ein- bis zweischichtigen Basallamina, auf der das Keimepithel (60-80 µm hoch) sitzt, welches aus den proliferierenden Keimzellen und den Sertoli-Zellen besteht.

Die Tubuli seminiferi haben einen Durchmesser von 180 – 280 µm.

Die Sertoli-Zellen können von der Basalmembran aus bis ins Lumen reichen und koordinieren hier den komplexen Ablauf der Spermatogenese.

Im Gegensatz zu den Keimzellen sind die Sertoli-Zellen beim adulten Mann nicht mehr proliferationsfähig. Die einzelnen Sertoli-Zellen stehen untereinander über Zonulae occludentes in Kontakt und gliedern damit das Keimepithel in einen basalen und adluminalen Bereich. Diese Kontaktzonen werden als morphologisches Korrelat der Blut-Hoden-Schranke angesehen.

Charakteristisch für die Sertoli-Zelle ist ein großer gelappter Kern mit einem prominenten Nucleolus. Zu den wichtigsten Funktionen der Sertoli-Zellen gehört die Produktion und Sekretion von Proteinen, Steroiden, Wachstumsfaktoren, Prostaglandinen und Zytokinen aus dem glatten und rauhen endoplasmatischen Retikulum. Außerdem verfügt die Sertoli-Zelle

über einen prominenten Golgi-Apparat, mit dem die Verpackung und der Transport sekretorischer Produkte erfolgt. Lysosomale Granula sorgen für die Phagozytose degenerierender Spermatozyten und der Residualkörper. Mikrotubuli und intermediäre Filamente passen die Zellform während den verschiedenen Phasen der Keimzellentwicklung an. Ihre Funktion besteht in der Versorgung der Keimzellen mit Nährstoffen und der Sekretion von Spermplasma, mit der die Spermatozoen in den Nebenhoden transportiert werden.

In die Sertoli-Zellen eingebettet liegen die Keimzellen, die sich von basal nach adluminal entwickeln. Im basalen Abschnitt befinden sich Spermatogonien und Spermatozyten I im Präleptotän. Der adluminale Bereich besteht aus Spermatozyten I in der Prophase der Meiose, Spermatozyten II und Spermatiden.

Alle Keimzellen, die auf der Basallamina sitzen sind Stammzellen (Spermatogonien). Diese unterteilen sich wiederum in A- und B-Spermatogonien. A-Spermatogonien differenzieren sich weiter zu B-Spermatogonien oder bleiben als Stammzelle erhalten. B-Spermatogonien treten in die Meiose ein, lösen sich von der Basallamina ab und bilden präleptotäne Zellen. Am Ende der Meiose entstehen aus einer Spermatogonie vier Spermatiden mit haploidem Chromosomensatz. Die Spermatiden erreichen ihre volle Reife nach der Spermatidenreifung und werden in das Tubuluslumen abgegeben (Spermiation). Von da an werden die elongierten Spermatiden als Spermium (Spermatozoon) bezeichnet (NIESCHLAG, E. et al. 1996).

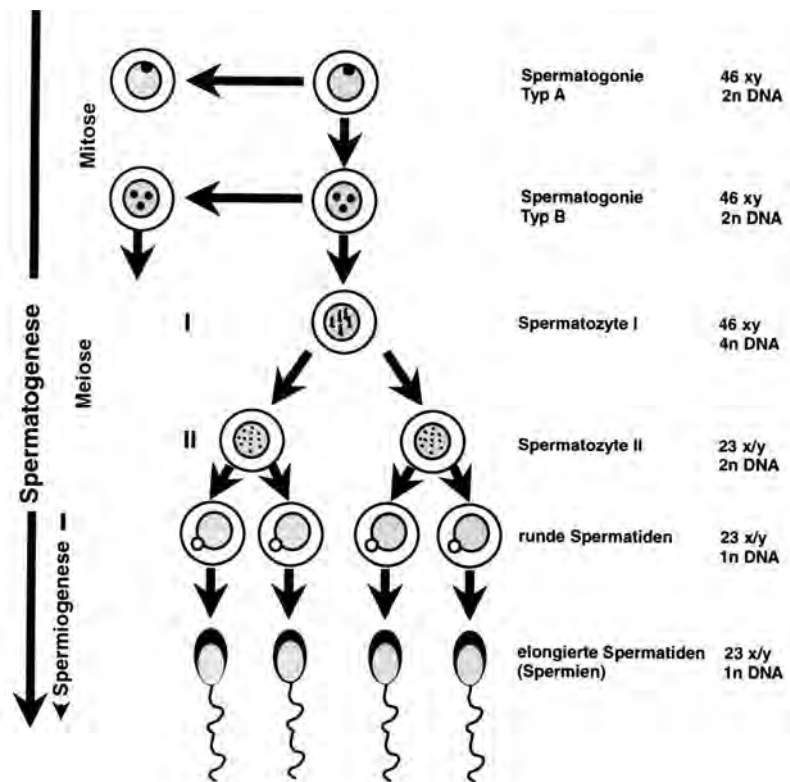


Abbildung 2: Schematische Darstellung der Spermatogenese (aus BERGMANN 1998)

Das Interstitium ist aufgebaut aus lockerem Bindegewebe, das GefäÙe, Nerven, Zellen des Immunsystems und Leydig-Zellen enthält. Die letztgenannten entwickeln sich, gesteuert vom luteinisierenden Hormon (LH), aus den mesenchymalen und den fibroblastenähnlichen Zellen des Interstitiums und besitzen eine geringe Proliferationsrate. Außerdem sind auch Makrophagen und Lymphozyten im Interstitium nachweisbar. Es wird spekuliert, dass die Makrophagen an der Steuerung der Proliferation und der Steroidproduktion der Leydig-Zellen beteiligt sind (NIESCHLAG, E. et al. 1992).

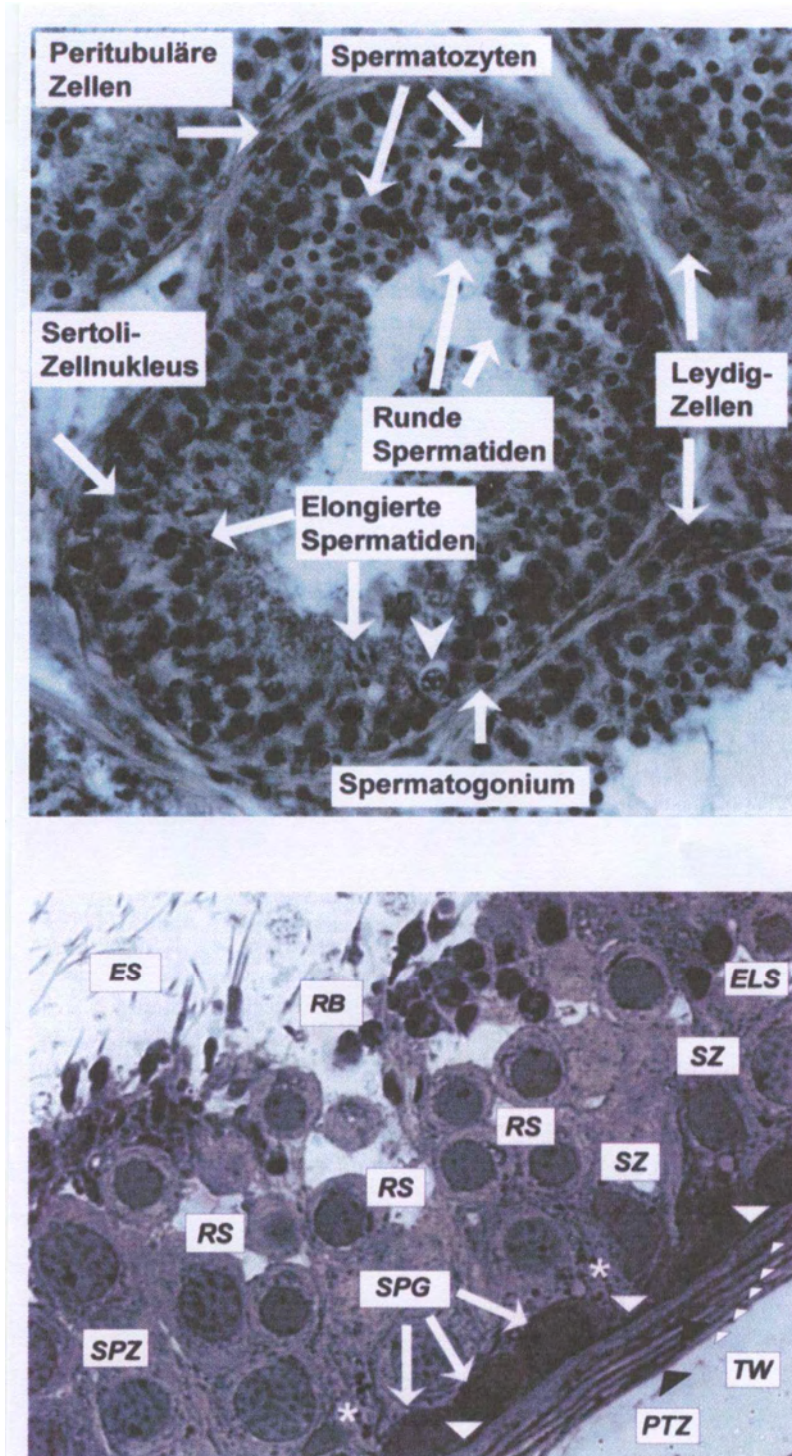
Charakteristisch für die Leydig-Zellen sowie für andere steroidhormonproduzierende Zellen ist der Reichtum an glattem endoplasmatischem Retikulum und an Mitochondrien.

Lipofuszingranula und Reinke-Kristalle, welche globuläre Proteinuntereinheiten sind, sind weitere charakteristische Bausteine der Leydig-Zellen.

Die Leydig-Zellen produzieren das männliche Sexualhormon Testosteron und stellen somit den endokrinen Anteil des Hodens dar.

Auf dem oberen Pol des Hodens und außerhalb der Tunica albuginea sitzt der Nebenhoden auf, der aus drei Teilen besteht: dem Kopf (Caput epididymidis), dem Körper (Corpus epididymidis) und dem Schwanz (Cauda epididymidis). In den Nebenhodenkopf münden die acht bis zehn Ductuli efferentes aus dem Rete testis, wobei der oberste von diesen im Anschluss den gewundenen Nebenhodengang bildet. Dieser hat eine Gesamtlänge von vier

bis sechs Meter und besitzt im Endabschnitt ein erweitertes Lumen zur Speicherung von Spermatozoen. Der Ductus deferens ist die Fortsetzung des Nebenhodenganges. Beide Organe, Hoden und Nebenhoden, liegen außerhalb der Bauchhöhle im Skrotum (NIESCHLAG, E. et al. 1996).



- RB Residualkörper
- ES elongierte Spermatisden
- ELS elongierende Spermatisde
- SPZ Spermatozyten
- SPG Spermatoogonien
- SZ Sertoli-Zellen
- PTZ peritubuläre Zellen

Abbildung 3+4: Histologischer Schnitt durch ein Samenkanälchen beim Mann (aus NIESCHLAG, E. et al. 1996)

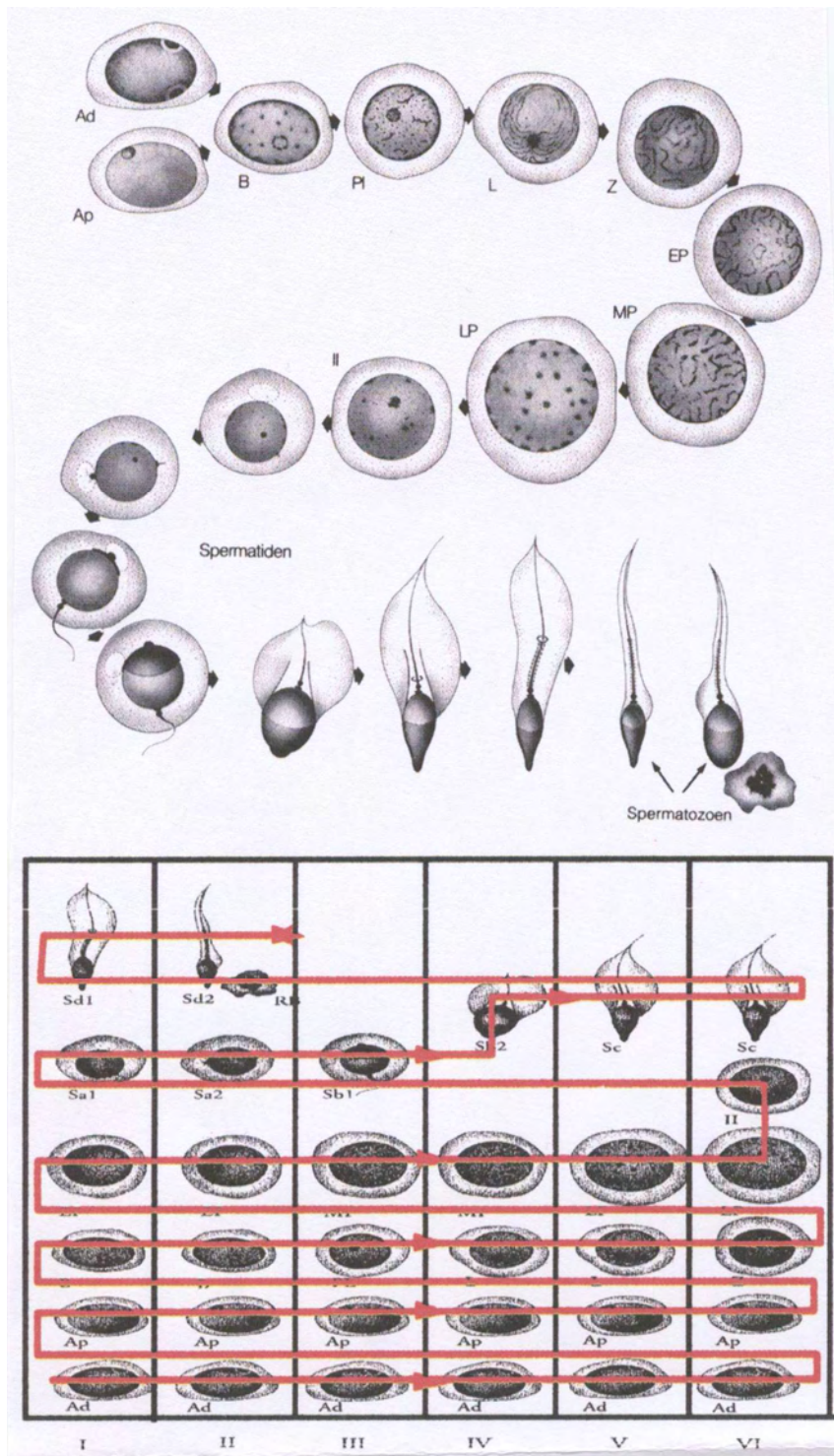


Abbildung 5: Darstellung der verschiedenen Entwicklungsstadien der Keimzellen und deren Anordnung in spezifischen Stadien im Humanhoden. Ad A-dark Spermatogonien, Ap A-pale Spermatogonien, B B-Spermatogonien, Pl präleptotäne Spermatozyten, L leptotäne Spermatozyten, EP frühe pachytäne Spermatozyten, MP mittlere pachytäne Spermatozyten, LP späte pachytäne Spermatozyten, II 2. meiotische Teilung, RB Residualkörper, Sa1-Sd2 Spermatozytenreifungsstadien (aus NIESCHLAG, E. et al., 1996)

Die Funktion des Hodens besteht zum einen aus der Produktion der Spermien (exokrin) und zum anderen aus der Bildung von Androgenen (endokrin). Beide Vorgänge finden in unterschiedlichen Kompartimenten des Hodens statt: die Produktion von Androgenen im Interstitium und die Bildung der Spermien im tubulären Kompartiment. Obwohl beide Kompartimente streng von einander getrennt sind, hängt ihre Funktion stark voneinander ab. Außerdem wird die Hodenfunktion endokrin in einem komplexen Regelkreis über Hypothalamus und Hypophyse reguliert.

1.2.2. Spermatogenese des Menschen

Als Spermatogenese wird die Ausreifung der Ursamenzellen bis zu den Samenfäden (Spermatozoen) bezeichnet, die sich im Keimepithel der Hodentubuli kontinuierlich abspielt. Beim Menschen nimmt dieser Prozess circa 64 Tage in Anspruch. Dazu kommen noch weitere 8-17 Tage, die für die Reifung und den Transport der Spermatozoen im Nebenhoden erforderlich sind. Erst nach dieser Zeit kann das Spermatozoon mit dem Ejakulat ausgestoßen werden.

Täglich werden 200 – 300 Millionen Spermien gebildet. Im Verlauf der Spermienreifung wandern Keimepithelklone innerhalb der Hodentubuli langsam nach oben, wobei Klonschichten in gleichen Entwicklungsstadien entstehen. Diese Entwicklungsstadien sind jedoch nicht in allen Abschnitten des Hodens identisch, sondern variabel.

Grundsätzlich gibt es in der Spermatogenese des Menschen vier verschiedene Zyklen (LUDWIG, G. 1998):

A. Spermatogonienstadium (=Spermatozytogenese)

In diesem Stadium bilden sich aus den Spermatogonien durch mitotische Proliferation die primären Spermatozyten. Dieser Vorgang enthält neben der Chromosomenpaarung und dem Austausch der Erbanlagen durch Crossing-over einen diploiden Chromosomensatz mit 46 Chromosomen.

Die Spermatogonien bilden die basale Schicht des Keimepithels. Unter den Spermatogonien wird zwischen Typ A und Typ B unterschieden. Die Typ A Spermatogonien werden nochmals in Ad(ark)-Spermatogonien und Ap(ale)-Spermatogonien unterteilt. Ad-Spermatogonien sind nicht-proliferationsfähige Stammzellen, wobei die Ap-Spermatogonien sich zu B-Spermatogonien differenzieren, aus denen dann die primären Spermatozyten entstehen.

Im Präleptotän verdoppeln die Chromosomen der primären Spermatozyten kurz vor Eintritt in die Prophase ihren DNS-Gehalt (DNS-Reduplikation).

B. Spermatozytenstadium (=Meiose I)

In diesem Stadium bilden sich aus den primären Spermatozyten durch die erste Reifeteilung die sekundären Spermatozyten. Da der diploide Chromosomensatz erhalten bleibt, wird die erste Reifeteilung auch als Äquationsteilung bezeichnet.

C. Spermatidenstadium (= Meiose II)

In der zweiten Reifeteilung bilden sich aus den sekundären Spermatozyten die Spermatiden. Da der diploide Chromosomensatz von 46 auf 23 Chromosomen

halbiert wird, spricht man hier von einer Reduktionsteilung, an dessen Ende eine Spermatide mit haploidem Chromosomensatz entsteht.

D. Spermiogenese in 4 Phasen

Nun erfolgt die Transformation der haploiden Keimzellen in reife Spermien.

- Golgi-Phase: Entstehung des Akrosombläschens und der kraniokaudalen Symmetrie
- Kappenphase: Entwicklung des Akrosoms
- Akrosomphase: Kondensation des Zellkerns, Fortschreiten der Elongation der Keimzelle und Flagellumausbildung
- Reifungsphase: Abstoßung des restlichen Zytoplasmas als so genannter Residualkörper und paralleler Beginn eines neuen Spermatogenesezyklus

(WEINBAUER et al. 1996)

Bei Erreichen der vollständigen Reife werden die Spermatiden aus dem Keimepithel in das Tubuluslumen entlassen (Spermiatio) und gelangen in den Nebenhoden. Jetzt werden die Spermatiden als Spermatozoen bezeichnet.

Im Nebenhoden machen die immotilen Spermatozoen eine weitere Reifung durch und gewinnen hierdurch die Fähigkeit zur Fortbewegung und Fertilisation. Dabei beträgt die Passagezeit im Nebenhoden zwei bis zehn Tage.

Durch Kontraktion des Ductus deferens werden die Spermatozoen weiter transportiert und verlassen schließlich zusammen mit Sekreten der Samenblase und der Prostata die Harnröhre als Ejakulat (LUDWIG, G. 1998).

1.2.3. Anatomie und Physiologie der Geschlechtsorgane der Ratte

Da die Ratte zu den Säugetieren gehört, gibt es keine großen Unterschiede im anatomischen Aufbau der Geschlechtsorgane im Vergleich zum Menschen.

Im Hoden einer erwachsenen Ratte befinden sich circa 20 Samenkanälchen. Der übrige histologische Aufbau des Hodens gleicht dem des Menschen.

Am dorsalen und medialen Rand jedes Hodens liegt der Nebenhoden, der anatomisch ähnlich aufgebaut ist wie beim Menschen.

Die Ductuli efferentes treten aus dem Hoden aus, um dann in den Nebenhodengang zu münden. Die Fortsetzungen des Nebenhodenganges bilden dann die Samenleiter, die von hinten kommend die Ureteren kurz vor der Einmündung in die Blase kreuzen.

Die Prostata bildet die Basis des Urogenitalkanals, wobei der vordere, dorsocraniale Lobus bei Nagetieren stärker entwickelt ist als die beiden dorsolateralen Anteile. Diese beiden vorderen Lappen der Prostata werden auch Koagulationsdrüsen bezeichnet, weil diese unmittelbar nach der Ejakulation ein Sekret absondern, das zu einem Pfropf gerinnt und damit die Vagina verschließt. Alle drei Lappen der Prostata münden in die Urethra (KOMAREK 2000, LIEBICH 1999).

Die physiologischen Grundlagen und die Funktion des Hodens bei der Ratte sind aufgrund von Artenverwandtschaft zum Menschen sehr ähnlich, so dass es kaum relevante Unterschiede gibt.

Auch bei der Ratte hat der Hoden eine exokrine und eine endokrine Funktion.

1.2.4. Spermatogenese der Ratte

Die Spermatogenese der Ratte ähnelt im Wesentlichen der des Menschen. Einige Unterschiede werden im Folgenden beschrieben (MAEDA et al.2000, KOMAREK 2000).

Die männlichen Geschlechtszellen der Ratte bleiben bis kurz vor der Pubertät (ca. bis 50 Tage nach der Geburt) inaktiv. Danach beginnen sie sich zu teilen und bilden die Spermatogonien.

Im Gegensatz zum Menschen gibt es bei den Ratten folgende Typen von Spermatogonien: Typ A (Mischtyp) und Typ B. Der Typ A wird unterteilt in Typ A0 (Stammzelle) und A1-A4. Die A0-Zellen liegen direkt auf der Basalmembran der Hodentubuli und können sich in zwei Tochterzellen teilen. Eine dieser Tochterzellen entwickelt sich zu einer A1-Spermatogonie und schleust sich in die weitere Spermatogenese ein, die zweite Zelle bleibt als A0-Stammzelle erhalten.

Die A1-Spermatogonien durchlaufen sechs mitotische Teilungen, bevor sie sich zur präleptotänen Spermatozyte entwickeln. Im Anschluss daran beginnt die Meiose, in der sich die primären Spermatozyten über eine leptotäne, zygotäne und pachytäne Phase zu sekundären Spermatozyten entwickeln.

Während der Meiose erhält jeder Spermatozyt eine von vier haploiden Spermatischen, die dann in die Akrosomenphase eintreten, in der die Kernkondensation, Elongation und zytoplasmatische Elimination erfolgt.

Insgesamt gibt es bei der Ratte 14 Stadien der Spermatogenese, die in einer segmentalen Anordnung in den Hodentubuli ablaufen. So kann man im Gegensatz zum Menschen im Querschnitt der Tubuli homogene Stadien mit vier bis fünf verschiedenen Keimzellstadien gleichzeitig sehen. Beim Menschen findet sich ein Mosaikmuster mit mehreren Stadien nebeneinander; die charakteristische segmentale Struktur wie bei der Ratte fehlt.

Ein Spermatogenesezyklus der Ratte mit den kompletten 14 Stadien dauert zwölf Tage. Um Spermatozoen zu bilden benötigt die Ratte insgesamt vier Zyklen, so dass insgesamt 48 Tage für eine vollständige Spermatogenese der Ratte benötigt werden.

Zur genaueren Einteilung der Spermatogenesestadien werden hier die für jedes Stadium charakteristischen Zellen aufgelistet.

Stadium 1:	A-Spermatogonien, intermediäre Spermatogonien, pachytäne Spermatozyten, runde und elongierte Spermatiden
Stadium 2:	A1-Spermatogonien, intermediäre Spermatogonien, pachytäne Spermatozyten, runde und elongierte Spermatiden
Stadium 3:	A1-Spermatogonien, intermediäre Spermatogonien, pachytäne Spermatozyten, runde und elongierte Spermatiden
Stadium 4:	A1-Spermatogonien, intermediäre Spermatogonien mit Mitoseaktivität, pachytäne Spermatozyten, elongierte Spermatiden
Stadium 5:	A1- und B- Spermatogonien, pachytäne Spermatozyten, runde und elongierte Spermatiden
Stadium 6:	A1- und B- Spermatogonien mit Mitoseaktivität, pachytäne Spermatozyten, runde und elongierte Spermatiden
Stadium 7:	A1-Spermatogonien, präleptotäne und pachytäne Spermatozyten, runde und elongierte Spermatiden, Residualkörperchen
Stadium 8:	A1-Spermatogonien, präleptotäne und pachytäne Spermatozyten, runde und elongierte Spermatiden, Residualkörperchen
Stadium 9:	A1-Spermatogonien in Mitose, leptotäne und pachytäne Spermatozyten, elongierte Spermatiden
Stadium 10:	A2-Spermatogonien, leptotäne und pachytäne Spermatozyten, elongierte Spermatiden
Stadium 11:	A2-Spermatogonien, leptotäne und pachytäne Spermatozyten, elongierte Spermatiden
Stadium 12:	A2-Spermatogonien in Mitose, leptotäne bis zygotäne und pachytäne Spermatozyten, elongierte Spermatiden
Stadium 13:	A3-Spermatogonien, zygotäne und diplotäne Spermatozyten, elongierte Spermatiden
Stadium 14:	A3-Spermatogonien mit Mitose, zygotäne und diplotäne sekundäre Spermatozyten, elongierte Spermatiden

(MAEDA et al.2000)

Wesentlicher Unterschied zwischen der Spermatogenese der Ratte und des Menschen ist, dass beim Menschen in den Hodentubuli eine Mosaikstruktur nachweisbar ist und bei der Ratte eher ein homogenes Bild mit mehreren Entwicklungsstadien nebeneinander vorliegt.

Außerdem gibt es Unterschiede in der Größe der Organe und der Keimzellen, sowie der Zeitdauer des Ablaufs der Spermatogenese.

Generell sind aber das Ziel und der Ablauf der Entwicklung der Keimzellen dieselben. Aus einer Spermatogonie werden über Mitose und Meiose reife Spermien gebildet (siehe Abbildung 6).

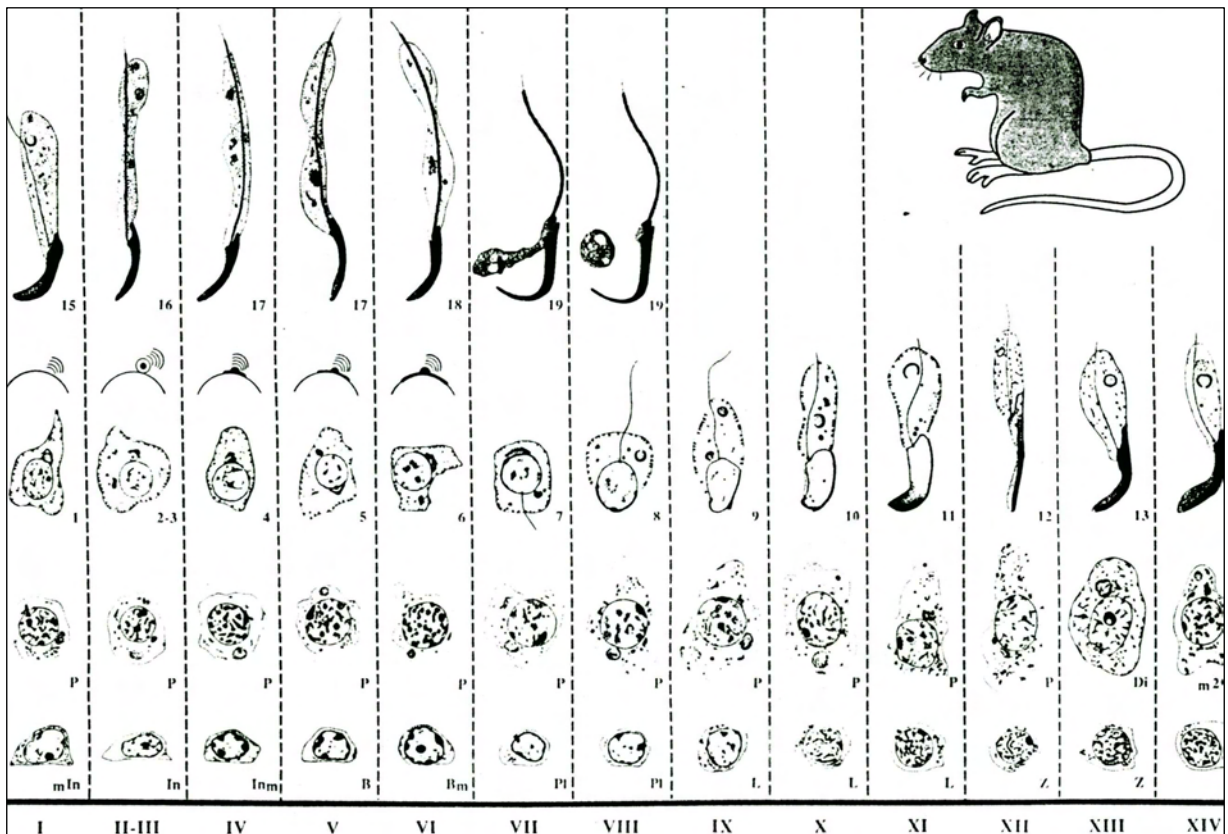


Abbildung 6: Stadien des Spermatogenesezyklus der Ratte aus MAEDA 2000, The Laboratory Rat

1.2.5. Fertilitätsstörungen des Menschen

Fertilitätsstörungen betreffen zum einen die Erektion und Ejakulation und zum anderen die Bildung und den Transport der Spermien.

Eine Einteilung der Fertilitätsstörungen gibt Tabelle 5.

Primäre Störungen des Keimepithels	Genetische Ursachen	Störungen im Bereich des Blutgefäßsystems	Exogene Faktoren
- idiopathische Ursachen - Entzündungen und Infektionen der männlichen Geschlechtsorgane - pathologisch-anatomische Störungen im Bereich der männlichen Geschlechtsorgane	- chromosomale Anomalien - angeborene hormonelle Anomalien	- Varikozele	- Genussgifte - Arzneimittel - Berufsnoxen - Umweltfaktoren - Psychogene Störungen - Störungen der Thermoregulation im Skrotalbereich - genitoabdominelle Eingriffe

Tabelle 5: Einteilung der Fertilitätsstörungen

Im Vordergrund dieses Kapitels stehen die entzündungsbedingten Fertilitätsstörungen. Die Spermatogenese kann hierbei in unterschiedlichen Stadien geschädigt oder gestört werden.

Dabei können

1. Veränderungen der sekretorischen Funktion der Drüsen
2. Störungen der Spermienproduktion
3. Störungen des Spermientransports
4. Störungen der Spermienfunktion auftreten.

Im Folgenden werden einige solcher Funktionsstörungen aufgeführt.

Im Verlauf einer urogenitalen Infektion können verschiedene Pathomechanismen, die zu einer Fertilitätsstörung führen diskutiert werden.

Zum einen können Mikroorganismen direkt die Spermatogenese stören. In-vitro Studien haben gezeigt, dass pathogene Erreger die Spermatozoen direkt beeinflussen und die Ejakulatzusammensetzung verändern können (DIEMER 2000 A).

Zum Beispiel beeinflussen *E. coli*-Bakterien die Spermatozoen durch direkt zelluläre Interaktion, mit der Folge von Motilitätsstörungen und Zerstörung der Molekularstruktur der Spermien (WOLFF 1993).

Weiterhin werden bei urogenitalen Infektionen (v.a. der akzessorischen Geschlechtsdrüsen) regelmäßig erhöhte zelluläre (z.B. Leukozyten), sowie nicht zelluläre Entzündungsparameter (z.B. Chemokine, Zytokine, reaktive Sauerstoffverbindungen) im Ejakulat gefunden. In diesem Zusammenhang werden direkt entzündliche, toxische und autoallergische Mechanismen diskutiert. Motilitätsstörungen werden erregerabhängig agglutinierenden oder immobilisierenden Effekten zugeschrieben (DIEMER et al. 1996).

Entzündungstypische Morphologiestörungen der Spermien bei der Orchitis wurden bereits 1985 von Hofmann und Haider beschrieben.

Des Weiteren können Veränderungen der sekretorischen Funktion der Geschlechtsdrüsen auftreten, die die Spermienproduktion und -funktion beeinträchtigen. Eine postinfektiös duktale Obstruktion kann zu einem gestörten Spermientransport führen. Dies kann bei bis zu 50% der Patienten nach einer bilateralen Epididymitis zu einer Verschlussazoospermie führen (WEIDNER 2006 A).

Eine Infertilität äußert sich bei dem Beispiel einer akuten Epididymitis mit Begleitorchitis häufig klinisch in Form eines OAT-Syndroms (Übersicht LUDWIG et al. 1994, BERGER 1984).

1.2.6. Quantitative und qualitative Beschreibung der Spermatogenese

Im Folgenden wird auf die quantitative und qualitative Beschreibung der Spermatogenese und deren Störungen beim Menschen eingegangen.

Johnsen entwickelte bereits 1970 eine besondere Methode zur Auswertung von Hodenbiopsien (JOHNSEN 1970). Er bediente sich meist nur einer einseitigen Biopsie. Alle angeschnittenen Tubuli wurden in einer zehnfachen Vergrößerung untersucht. In einem rechteckigen Feld wurde das Präparat in Zählzonen eingeteilt. Durchschnittlich wurden 113 Tubuli bezüglich ihres Spermatogenesestadiums nach den Kriterien in Tabelle 6 ausgewertet und ein Score gebildet. Zusätzlich wurden die Anzahl der Leydig-Zellen und der Innendurchmesser von zehn quer geschnittenen Tubuli bestimmt (Bestimmung eines Mittelwertes). Johnsen fand sehr hohe Korrelationskoeffizienten zwischen den Scorewerten und den Spermioagrammwerten (0,82, $p < 0,001$). Weiterhin konnte eine Assoziation zwischen dem Durchschnittsscorewert und dem Tubulusdurchmesser gefunden werden.

Score 10	Komplette Spermatogenese mit Spermien (elongierte Spermatozoen). Keimepithel mit regulärer Dichte.
Score 9	Viele elongierte Spermatozoen. Keimepithel unorganisiert mit Lumenverschorfung oder –verschluss.
Score 8	Nur wenige elongierte Spermatozoen (<5-10) vorhanden.
Score 7	Keine elongierten Spermatozoen, aber viele runde Spermatozoen vorhanden.
Score 6	Keine elongierten Spermatozoen, nur wenige runde Spermatozoen (<5-10).
Score 5	Keine elongierten und runden Spermatozoen, viele Spermatozyten.
Score 4	Nur wenige Spermatozyten (<5), keine elongierte oder runde Spermatozoen vorhanden.
Score 3	Nur Spermatogonien vorhanden
Score 2	Nur Sertoli-Zellen vorhanden
Score 1	Keine Zellen

Tabelle 6: Spermatogenescore nach Johnsen (JOHNSEN 1970)

In den folgenden Jahren wurde ausgehend von diesem Verfahren der Johnsen score modifiziert, indem weitere histologische Informationen wie die Tubulidurchmesser, Keimepitheldicke und Basalmembrandicke in die Beurteilung einfließen.

Morphologisch abweichende Spermatozoen wurden dokumentiert. Ebenso sollte die Morphologie der Leydig – und Sertoli-Zellen beachtet werden.

Ausgehend von diesen Verfahren wurde in dieser Arbeit die Quantifizierung der Spermatogenese bei der Ratte mittels eines Scoresystems von Prof. M. Bergmann (Geschäftsführender Direktor des Institutes für Veterinär-Anatomie, Histologie und – Embryologie) vorgenommen, welches eine abgewandelte und erweiterte Form des Johnsen scores widerspiegelt.

Ganz im Gegensatz zum Johnson-Score, der eine sehr aufwendige Methode mit Klassifizierung eines jeden einzelnen Tubulus darstellt, ist die Methode nach Bergmann einfach und bestimmt den Prozentsatz der Keimtubuli mit elongierten Spermatozoen, da die elongierten Spermatozoen signifikant mit einem Fertilisierungserfolg korrelieren. Außerdem ist aufgrund von zytologischen Analysen unter Einschluss funktioneller Färbetechniken (Immunhistochemie, In-situ-Hybridisierung) eine Beurteilung der Ursache von vorliegenden Spermatogenesestörungen möglich (BERGMANN M 2007).

Das Scoresystem nach Prof. M. Bergmann wird unter dem Punkt Material und Methodik näher erläutert.

2 *Fragestellung*

JOHANNES untersuchte in einer vorhergehenden tierexperimentellen Arbeit den Einfluss von Sparfloxacin auf den Verlauf einer *E. coli*-induzierten Epididymitis bei Sprague-Dawley-Ratten. Durch Injektion von *E. coli* in den rechten Ductus deferens der Tiere wurde ein kanalikulärer Infektionsweg beim Menschen imitiert. Hier konnte gezeigt werden, dass eine experimentelle *E. coli* induzierte Epididymitis zur Persistenz der Bakterien im Nebenhoden trotz Therapie mit Sparfloxacin geführt hat. Obwohl die inflammatorische Reaktion durch frühzeitige Antibiotikumverabreichung mit Sparfloxacin im Vergleich zu unbehandelten Kontrollen vermindert war, konnte jedoch eine Chronifizierung der Entzündungsreaktion im Nebenhoden nicht verhindert werden (JOHANNES 1999).

Diese Studie sollte nun als Fortführung der Studie von Johannes die Auswirkung einer *E. coli* induzierten Epididymitis auf Entzündung und Spermatogenese des Hodens untersuchen. Dazu wurden Paraffinblöcke der Hoden aus der Vorstudie von Johannes verwendet. Die Ziele der hier präsentierten Arbeit waren:

1. Qualitative und quantitative Bemessung der Entzündung im Hoden
2. Qualitative und quantitative Bemessung der Spermatogenese
3. Wechselwirkungen zwischen Entzündung und Spermatogenese

3 *Material und Methodik*

3.1. Versuchstiere

Alle in dieser Studie beschriebenen Tierversuche wurden vom Regierungspräsidium Gießen unter dem Aktenzeichen 17a-19c 20/15(1) Gi 20/14-5/93 genehmigt und bereits in einer Vorstudie durchgeführt (Dissertationsarbeit von Frau S. Johannes von 1999: „Experimentelle Escherichia coli-Epididymitis bei Ratten unter Einfluss von Sparfloxacin“). Die fertigen Paraffinblöcke der Hoden aus dieser Dissertationsarbeit sind Grundlage der hier dargestellten Untersuchungen.

60 männliche Sprague-Dawley-Ratten im Alter von zehn bis 14 Wochen und mit einem Körpergewicht von 280-380g wurden von Harlan-Winkelmann, Borcheln, bezogen. Zur Identifizierung der einzelnen Tiere wurden diese mit Ohrmarken (Tötungszeitraum innerhalb 14 Tagen) bzw. Tätowierungen (Langzeitversuch) versehen. Nach Randomisierung der Tiere in Kontroll- und Therapiegruppe wurden diese gruppenweise in Käfigen (fünf Tiere pro Käfig) bei einem Tag-Nacht-Rhythmus von zwölf Stunden gehalten. Als Futter wurden ihnen pelletiertes Fertigfutter und Wasser ad libitum angeboten.

Alle 60 Tiere wurden infiziert. Je 20 dieser 60 Tiere wurden insgesamt drei Tötungszeiträumen zugeteilt. Von diesen 20 Tieren wurden pro Tötungszeitraum je zehn Tiere antibiotisch mit Sparfloxacin behandelt und je zehn Tiere blieben unbehandelt als Kontrollgruppe, so dass insgesamt sechs Gruppen resultierten (siehe Abbildung 7).

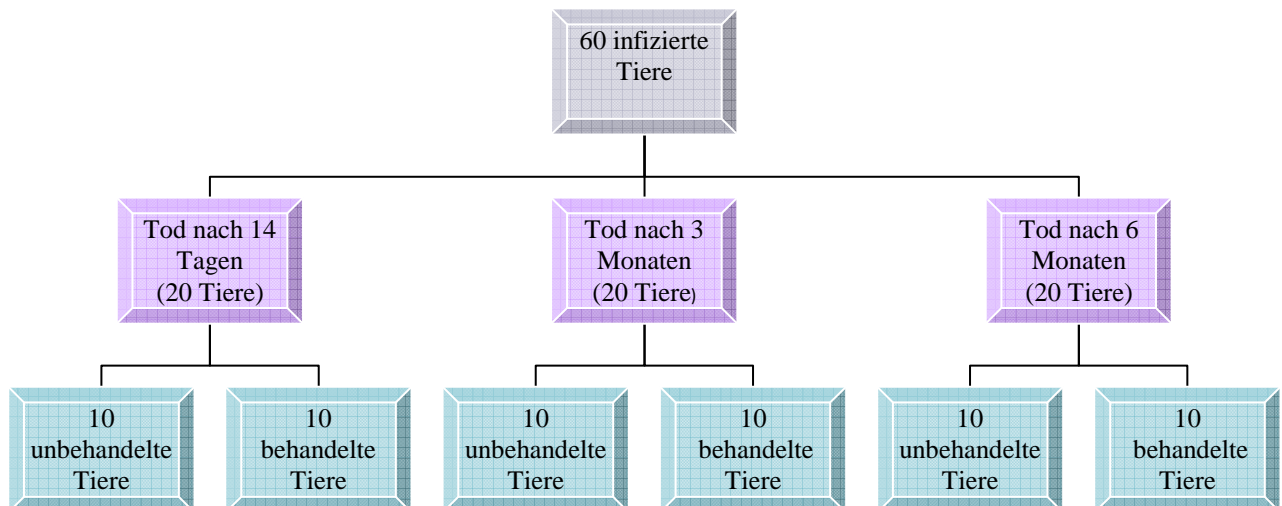


Abbildung 7: Schematische Darstellung der Versuchstiere

Aus diesen sechs Gruppen wurden randomisiert jeweils drei Tiere und deren histologische Hodenpräparate für die vorliegende Studie herangezogen, sodass die Arbeit insgesamt 18 Tiere untersucht.

3.1.1. Erreger

Es wurde ein klinischer Stamm von *Escherichia coli*, Serotyp 0:6 verwendet, der vom Institut für Medizinische Mikrobiologie (Direktor Prof. Dr. T. Chakraborty), Justus-Liebig-Universität Gießen bezogen wurde. Der Stamm wurde aus einem Patienten mit bakterieller Prostatitis isoliert. Der Stamm war hochempfindlich gegenüber Sparfloxacin. Die minimale Hemmkonzentration betrug 0,012µg/ml (Dissertation JOHANNES S. 1999).

Durch Verdünnung einer Übernachtskultur des Testkeimes mit Tris buffered saline (TSB) wurde eine Bakteriensuspension auf ca. $1,9 \times 10^7$ Kolonie bildende Einheiten (KBE)/ml per Eichkurve eingestellt. Es wurden dann jeweils Portionen von 1 ml bei -70 Grad Celsius eingefroren. Eine tiefgefrorene Portion wurde an jedem Operationstag vom Pool entnommen und aufgetaut (JOHANNES 1999).

Vor der Inokulation wurde die *E. coli*-Suspension 1:1 mit TSB auf ein finales Inokulum von ca. $9,5 \times 10^5$ KBE/ 0,1 ml verdünnt.

3.1.2. Infektionstechnik

Nachdem die Tiere mit Ketanest/Xylazin im Verhältnis 3:1 narkotisiert waren und das Fell ca. ein cm lateral des Penis gescheitelt war, erfolgte eine Desinfektion der Inguinalgegend mit 70%igem Alkohol. Danach erfolgte eine komplette Eröffnung des Skrotums mit Darstellung des Hodens, Nebenhodens und des Ductus deferens. Mit einer 27G Kanüle wurde von kranial her in den rechten Ductus deferens eingestochen und 0,1 ml der vorher auf Eis gelagerten *E. coli* 0:6 Suspension in Richtung rechten Nebenhoden injiziert.

Nach Reponierung der Organe erfolgte der Verschluss in zwei Schichten mit 4-0 Catgut. Um eine Verschmutzung der Wunde mit Einstreu zu vermeiden, wurden die Tiere bis zum Erwachen aus der Narkose auf Zellstoffpapier gelegt.

3.1.3. Antibiotikum

Die Pharmakokinetik von Sparfloxacin (SPX) wurde in einer Vorgängerstudie im Rattenmodell getestet (Ludwig M. et al, 1997). Es konnte hierbei gezeigt werden, dass Sparfloxacin in der Dosierung von 50 mg/kg/KG aufgrund der guten in vitro Aktivität gegenüber *E. coli* und der guten Penetration in infizierten und nicht infizierten Hoden und Nebenhoden geeignet für die Therapie der Epididymo-Orchitis ist.

Sparfloxacin wurde als Reinsubstanz von der Firma Rhone-Poulenc-Rorer in Köln gemäß Herstellerangaben aufgelöst und die antibiotische Therapie wurde 24 Stunden nach erfolgter Infektion (p.inf.) begonnen. Jedem Tier wurde mit einer leicht gebogenen Knopfkanüle einmal täglich 50mg/kg/KG Sparfloxacin direkt in den Magen gegeben. Die Medikamentengabe erfolgte unter Berücksichtigung eines 24-Stunden-Rhythmus für die Dauer von sieben Tagen (JOHANNES 1999).

3.1.4. Tötungszeitraum und Organentnahme

In der Versuchsreihe wurden die Tötungszeiträume mit 14 Tagen, drei und sechs Monaten nach Infektion angesetzt. Zu diesen unterschiedlichen Zeitpunkten erfolgte die schmerzlose Tötung und Organentnahme der Tiere.

Nach Desinfektion mit 70%igem Alkohol wurde die Inguinalgegend eröffnet, und Hoden und Nebenhoden wurden unter sterilen Bedingungen freigelegt und entnommen.

Die Organe wurden sofort gewogen, und nach makroskopischer Befunderhebung wurde jedes Organ in ein eigenes steriles Röhrchen gelegt. Bis zur Aufarbeitung wurden die Organe bei -20 Grad Celsius gefroren.

Pro Tötungszeitpunkt (14 Tage, drei und sechs Monate) und Gruppe (mit Sparfloxacin behandelt und unbehandelt) wurde von jeweils drei Tieren der rechte (infizierte) und linke (nicht infizierte) Hoden und Nebenhoden mit einem sterilen Skalpell halbiert. Die eine Hälfte wurde für die histologische Weiterverarbeitung verwendet, die andere Hälfte kam in das Probenröhrchen zurück. Somit wurden von insgesamt 18 Tieren 36 Hodenpräparate der weiteren Untersuchung zugeführt.

Für die histologische Weiterverarbeitung wurde Bouinsche Lösung frisch hergestellt: von einem Gemisch von 10 ml Eisessig, 50 ml 37%-iges Formol und 150 ml gesättigte, wässrige Pikrinsäure wurden jeweils ca. 10 ml in vorbereitete Röhrchen abgefüllt. Für die Zeit von einem Tag blieben die halbierten Organe in dieser Lösung und wurden später in 70%-igen Alkohol überführt, in welchem sie bis zu ihrer Aufarbeitung verblieben (JOHANNES 1999).

3.2. Histologische Aufarbeitung der Hoden

Die Herstellung der histologischen Präparate der Hoden und Nebenhoden erfolgte im Institut für Anatomie und Zellbiologie in Halle, sowie im Institut für Veterinär-Anatomie, Histologie und –Embryologie in Gießen, beides unter Leitung von Prof. Dr. M. Bergmann. Die Paraffinblöcke der Hoden und Nebenhoden wurden von Johannes erstellt (JOHANNES 1999). Die Hämatoxylin-Eosin-Färbungen und immunhistochemische Färbungen, deren Beurteilung und Auswertung erfolgten durch mich.

3.2.1. Herstellung der Paraffinblöcke

Die fixierten Organe wurden in vier parallele Scheiben geschnitten, und wurden anschließend über Nacht in einen Automaten (Autotechnikon), in aufsteigender Isopropanolreihe entwässert. Danach erfolgte über Xylol als Intermedium die Einbettung in Paraffin. Von diesen Paraffinblöcken konnten nun histologische Schnitte am Mikrotom angefertigt werden (JOHANNES 1999).

3.2.2. Hämatoxylin-Eosin-Färbung

Am Mikrotom wurden mehrere (fünf Präparate pro untersuchtem Hoden, insgesamt 180 Präparate) 7 mm breite histologische Schnitte von jedem Hoden angefertigt, die nach Streckung im Wasserbad auf dafür vorgesehene Objektträger aufgezogen wurden.

Bevor die Objektträger 10 Minuten in Hämatoxylin gefärbt wurden, erfolgte eine Entparaffinierung über eine absteigende Alkoholreihe:

- drei mal 10 Minuten in Xylol
- 5 Minuten in absolutem Alkohol
- 5 Minuten in 96%igem Alkohol
- 5 Minuten in 80%igem Alkohol
- 5 Minuten in 70%igem Alkohol
- 5 Minuten in 50%igem Alkohol
- 5 Minuten in dest. Wasser

Nachdem die Präparate mindestens 10 Minuten lang in Leitungswasser gebläut wurden, erfolgte die Färbung mit Eosin für die Dauer von 5 bis 10 Minuten, um sie dann wieder eine Minute lang unter fließendem Leitungswasser auszuspülen.

Danach wurden die Präparate jeweils eine Minute in 70%igem und 80%igem Alkohol eingetaucht. Nach diesem Vorgang erfolgte eine manuelle Entwässerung der Präparate in aufsteigender Alkoholreihe und Intermedium.

- 2 Minuten in 80%igem Alkohol
- zweimal 2 Minuten in 96%igem Alkohol
- dreimal 2 Minuten in 100%igem Alkohol
- dreimal 10 Minuten in Xylol

Am Ende dieses Vorgangs wurde jedes Präparat mit Eukitt eingedeckt.

Nach ausreichender Trocknung in einem Brutschrank konnten die Präparate dann zur histologischen Untersuchung herangezogen werden.

3.2.3. Immunhistochemische Färbung

Zur Auszählung der B- und T- Lymphozyten wurden monoklonale Antikörper der Firma Camon/Serotec aus Wiesbaden verwendet. Die Antikörper für die B-Lymphozyten waren gekennzeichnet mit dem Code MCA 340G, die für die T-Lymphozyten hatten den Code MCA 52.

Die immunhistochemische Färbung erfolgte für beide Zelltypen methodisch identisch mit unterschiedlichen monoklonalen Antikörpern:

Zunächst erfolgte eine Entparaffinierung der Präparate nach folgendem Schema:

- dreimal 10 Minuten in Xylol tauchen
- 5 Minuten in absolutem Alkohol
- 5 Minuten in 96%igem Alkohol
- 5 Minuten in 80%igem Alkohol
- 5 Minuten in 70%igem Alkohol
- 5 Minuten in 50%igem Alkohol
- 5 Minuten in dest. Wasser

Anschließend erfolgte eine Pufferung mit TBS (Tris buffered saline). Nachdem die Präparate 30 Minuten lang bei Raumtemperatur in einer Mischung aus Methanol und H₂O₂ (3%ig) getaucht wurden, wurden sie nochmals mit TBS gepuffert.

Nun kamen die Präparate in ein Gemisch aus 100 ml Enhancer-Konzentrat und 300 ml aqua dest. und danach unter folgender Temperaturabstufung in die Mikrowelle:

- 5 Minuten bei 500 Watt
- 5 Minuten Pause
- 5 Minuten bei 500 Watt

Nach 20 minütiger Abkühlung erfolgte nochmals eine Pufferung mit TBS. Im nächsten Schritt wurden alle Präparate für 30 Minuten zur Blockung mit Pferdeserum (Vector S-2000) beschickt. Nach Abkippen des Pferdeserums wurden die Präparate mit dem

Primärantikörper (MCA 340G bzw. MCA 52) im Verhältnis 1:300 über Nacht bei Raumtemperatur behandelt.

Am nächsten Tag erfolgte eine erneute Pufferung mit TBS.

Während als nächstes das ABC-Reagenz (Vectastain PK 6100) angesetzt wurde, wurden die Präparate 30 Minuten lang mit dem Brückenantikörper (Vector BA 2001) behandelt. Danach erfolgte eine nochmalige Pufferung mit TBS, um die Präparate dann 60 Minuten mit dem ABC-Komplex zu betropfen.

Nach erneuter Pufferung mit TBS wurden die Präparate mit Diaminobenzidin aus Peroxidase-Substrat-Kitt III / Camon beträufelt.

Zum Schluss erfolgte die letzte Pufferung mit TBS, die Präparate wurden in der oben beschriebenen aufsteigenden Alkoholreihe behandelt und mit Eukitt eingedeckt.

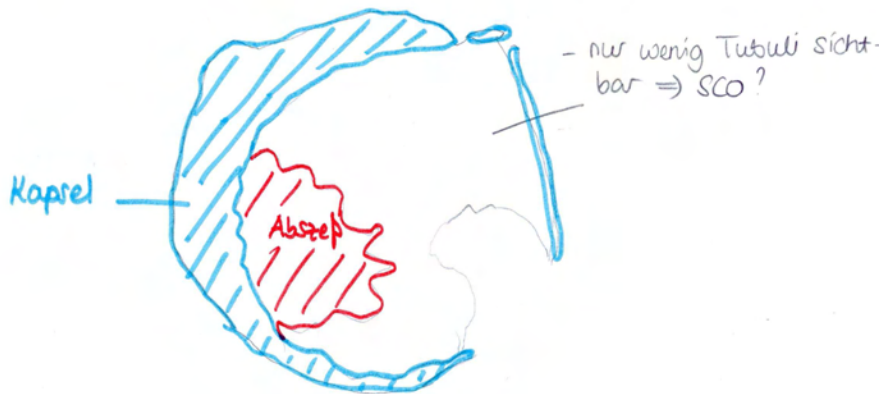
3.3. Bildgebende Verfahren

Die Auszählung der Entzündungszellen und die Beurteilung der Spermatogenese erfolgten im andrologischen Labor der Klinik für Urologie und Kinderurologie der Justus-Liebig-Universität Gießen und im Labor der Klinik für Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen.

Mit dem Lichtmikroskop „Leica DM LB“ (Leica, Wetzlar) wurden zunächst mit 5-er und 10-er Objektiven Übersichtszeichnungen für die Auszählung der Entzündungszellen und der Spermatogenesestadien angefertigt (Abbildung 8).

Hoden 13: rechts unbehandelt

Schnitt 51:



Schnitt 111:

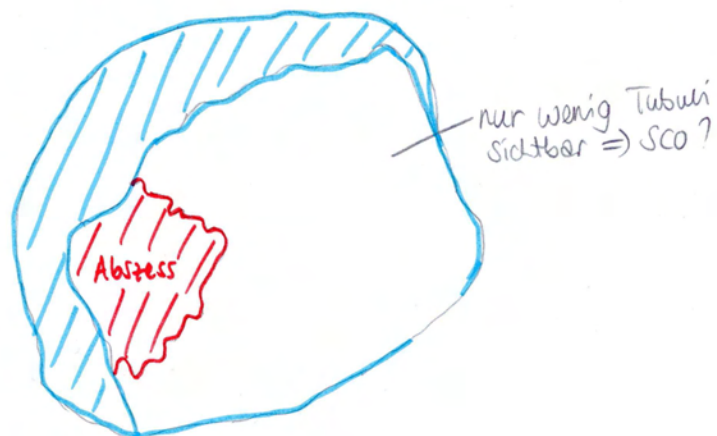


Abbildung 8: Übersichtszeichnung des Hodens

Für die Auszählung der Entzündungszellen und die Beurteilung der Spermatogenesestadien wurden 20-er und 40-er Objektive verwendet, wobei die quantitative Auszählung mit dem 20-er Objektiv erfolgte, und das 40-er Objektiv für die qualitative Beurteilung der einzelnen Tubuli oder Entzündungszellen eingesetzt wurde.

Schließlich erfolgte die Aufnahme, Archivierung und Dokumentation der Abbildungen mit der DHS Bilddatenbank V5.00 (Dietermann & Heuser Solution GmbH, Greifenstein-Beilstein) im Institut für Veterinär-Anatomie, Histologie und –Embryologie in Gießen. Für die Anfertigung der Abbildungen 22-27 (im Anhang) wurde die dem Lichtmikroskop

integrierte 3-CCD Colour Video Camera KY-F55B der Firma JVC aus Friedberg und das Objektiv „N PLAN 40x/0,65 40x“ der Firma Leica aus Wetzlar verwendet.

3.4. Quantifizierung der Entzündung

Zur Quantifizierung der Orchitis wurden 4 verschiedene Typen von Entzündungszellen (Granulozyten, B- und T- Lymphozyten und Makrophagen) untersucht.

3.4.1. Auszählung der Granulozyten und Scorebildung

Für die Auszählung der Granulozyten wurden pro Versuchstier vom linken und rechten Hoden je fünf hämatoxylin-eosin-gefärbte Präparate aus fünf verschiedenen Schnittebenen angefertigt, die je dreimal ausgezählt wurden; d.h. pro Hoden ergaben sich somit 15 verschiedene Werte, von denen der Mittelwert für die statistische Auswertung weiterverwendet wurde.

Das gesamte Präparat wurde durchmustert, ohne Berücksichtigung von Blutgefäßen. Nachdem das Präparat in drei gleichgroße Abschnitte aufgeteilt wurde, wurde ein Drittel des Präparates ausgezählt und der resultierende Wert mit drei multipliziert. Bei Vorkommen von Abszessen, die in der Übersicht zu erkennen waren, wurde ebenfalls das Präparat gedrittelt, wobei darauf geachtet wurde, dass die Trennlinie nicht durch den Abszess führte, ein Drittel des Präparates wie oben ausgezählt und das Ergebnis mit drei multipliziert. Zusätzlich wurde dann die Anzahl an Granulozyten im Abszess gezählt und diese Zahl zur oben erhaltenen Zahl dazu addiert.

Nachdem alle Präparate abgezählt waren, wurde der Granulozytenanzahl ein Scorewerte von 0 bis 4 zugeordnet (Tabelle 7). Die Mittelwerte wurden in eine Excelltabelle übertragen wie im Anhang ersichtlich (Tabellen 12 und 13).

Score 0	Bis 100 Granulozyten
Score 1	Bis 200 Granulozyten
Score 2	Bis 300 Granulozyten
Score 3	Bis 400 Granulozyten
Score 4	Über 400 Granulozyten

Tabelle 7: Granulozyten-Score

3.4.2. Auszählung der B- u. T-Lymphozyten und Scorebildung

Für die Auszählung der Lymphozyten wurden ebenfalls pro Versuchstier vom linken und rechten Hoden je fünf immunhistochemisch-gefärbte Präparate in fünf verschiedenen Schnittebenen angefertigt, die je dreimal ausgezählt wurden; d.h. pro Hoden ergaben sich auch hier 15 verschiedene Werte, von denen der Mittelwert für die statistische Auswertung weiterverwendet wurde.

Das gesamte Präparat wurde durchmustert, ohne Berücksichtigung von Blutgefäßen. Nachdem das Präparat in drei gleichgroße Abschnitte aufgeteilt wurde, wurde eine Drittel ausgezählt und später mit drei multipliziert.

Bei Vorkommen von Granulomen bzw. Abszessen wurde ein Drittel ausgezählt, das Ergebnis mit drei multipliziert und dann die Anzahl an Lymphozyten im Abszess dazu addiert. Nachdem alle Präparate abgezählt waren, wurde eine Einteilung der B- und T- Lymphozyten in verschiedene Scorewerte vorgenommen (Tabelle 8). Auch hier erfolgte eine Übertragung der Mittelwerte in eine Excelltabelle (siehe Tabellen 12 und 13 im Anhang).

Score 0	Bis 150 T-/B-Lymphozyten
Score 1	Bis 300 T-/B-Lymphozyten
Score 2	Bis 450 T-/B-Lymphozyten
Score 3	Bis 600 T-/B-Lymphozyten
Score 4	Über 600 T-/B-Lymphozyten

Tabelle 8: Lymphozyten-Score

3.4.3. Auszählung der Makrophagen und Scorebildung

Die Auszählung der Makrophagen erfolgte auf die gleiche Art und Weise wie die von den Granulozyten und Lymphozyten, mit den für Makrophagen vorgesehenen Präparaten (Hämatoxylin-Eosin-Färbung). Auch hier erfolgte nach endgültiger Abzählung eine Einteilung nach Scores (Tabelle 9). Die Mittelwerte wurden in eine Excelltabelle übertragen (siehe Tabelle 12 und 13 im Anhang).

Score 0	Bis 20 Makrophagen
Score 1	Bis 30 Makrophagen
Score 2	Bis 40 Makrophagen
Score 3	Bis 50 Makrophagen
Score 4	Über 50 Makrophagen

Tabelle 9: Makrophagen-Score

3.4.4. Bildung eines Gesamtscores für die Entzündungsparameter

Für die weitere statistische Auswertung wurde ein Gesamtscore der Entzündungszellen (S_G) gebildet, der sich aus der Summe der Scores von den Makrophagen (S_m), Lymphozyten (S_b u. S_t) und Granulozyten (S_g) zusammensetzte.

$$S_G = S_m + S_b + S_t + S_g$$

Auch hier wurden die Werte in eine Excelltabelle übertragen.

3.4.5. Vergleichsgruppen

Anhand der ermittelten Entzündungswerte wurden Seitenunterschiede zwischen rechtem und linkem Hoden untersucht unabhängig von Behandlung und Tötungszeitpunkt.

Des Weiteren wurde untersucht, ob es Unterschiede zwischen behandelten und unbehandelten Tieren bezüglich der Entzündungsparameter gab.

Zuletzt wurde ermittelt, ob es einen Zeiteffekt bezüglich der Entzündungsparameter gab; d.h. es wurde untersucht, ob es Unterschiede oder Gemeinsamkeiten in den verschiedenen Tötungszeiträumen bezüglich der Entzündungsparameter gab.

Diese Gesichtspunkte wurden anhand der Einzelscores und des Gesamtscores der Entzündungsparameter statistisch untersucht.

3.5. Quantifizierung der Spermatogenese

Hier erfolgte bei persistierenden Mikroorganismen in der Vorstudie (Nebenhoden der infizierten Seite waren nicht steril) und dringendem Verdacht auf eine entzündliche Begleitorchitis eine Beurteilung der Spermatogenese im Hoden.

3.5.1. Auszählung der Spermatogenesestadien und Scorebildung

Die Auszählung der Spermatogenesestadien erfolgte semiquantitativ mit einem Spermatogenesecore-System nach Bergmann (Bergmann, 1998).

Dabei wurde der prozentuale Anteil der elongierten Spermatozoen an der Gesamtzahl der gezählten Tubuli berücksichtigt.

Es wurde unterschieden zwischen Stadien bis elongierte Spermatozyten, bis runde Spermatozyten, bis primäre Spermatozyten, bis Spermatozyten und bis Sertoli-Cell-Only-Tubuli (siehe Abbildung 9).

Auch hier wurden pro Versuchstier vom linken und rechten Hoden je fünf hämatoxylin-eosin-gefärbte Präparate in verschiedenen Schnittebenen ausgezählt. Es wurden jeweils dreimal 50 Tubuli ($3 \times 50 = 150$ Tubuli) an unterschiedlichen Stellen des Präparates gezählt. D.h. pro Hoden wurden fünf Schnitte mit jeweils 150 Tubuli ($5 \times 150 = 750$ Tubuli) untersucht. Von den fünf verschiedenen Schnittebenen wurde dann der Mittelwert pro Hoden für die statistische Auswertung ermittelt. Gequetschte Tubuli und Tubuli an den Rändern des Präparates wurden nicht berücksichtigt. Die Zählung und Beurteilung erfolgte hauptsächlich im Zentrum des Präparates.

Berechnungsformel für den Score:

Prozentualer Anteil von elongierten Spermatozyten = Mittelwert von Tubuli bis elongierte Spermatozyten / insgesamt 150 gezählte Tubuli $\times 100$. Das Ergebnis wurde an Tabelle 10 mittels mathematischer Auf- und Abrundung angepasst.

Zum Beispiel: elongierte Tubuli: $10 + 12 + 14 + 16 + 10 = 62$

Mittelwert = $62 / 5 = 12,4$

$12,4 / 150 = 0,826 \times 100 = 8,2\%$ elongierte Spermatozyten = Score 1.

Die pro Präparat ausgewerteten 150 Tubuli wurden einem von folgenden fünf Stadien zugeordnet:

- Spermatozyten bis zu elongierten Spermatozyten
- Spermatozyten bis zu runden Spermatozyten
- Spermatozyten bis zu primären Spermatozyten
- Spermatozyten bis zu Spermatozyten
- Sertoli-Cell-Only-Tubuli.

Ausschlaggebend war die Anzahl der Tubuli in dem Spermatozytenstadium mit Ausreifung bis zu den elongierten Spermatozyten, die zu folgenden Scorewerten führte:

Score 0	Keine elongierten Spermatiden
Score 1	10% elongierte Spermatiden
Score 2	20% elongierte Spermatiden
Score 3	30% elongierte Spermatiden
Score 4	40% elongierte Spermatiden
Score 5	50% elongierte Spermatiden
Score 6	60% elongierte Spermatiden
Score 7	70% elongierte Spermatiden
Score 8	80% elongierte Spermatiden
Score 9	90% elongierte Spermatiden
Score 10	100% elongierte Spermatiden

Tabelle 10: Spermatogenese-Score

Alle Mittelwerte der Scores wurden in Excelltabellen übertragen und für die weitere statistische Auswertung herangezogen (siehe Tabellen 12 und 13 im Anhang).

Beurteilungsbogen für Hodenbiopsien

Name, Vorname:

Geburtsdatum:

Biopsie erfolgte am:

Klinik:

Auswärtige Biopsie zur Beurteilung angefordert:

Institut/Klinik:

Patientenbetreuung durch:

Klinische Diagnose(n):

Beurteilungskriterien	Biopsie rechts	Biopsie links
<i>Semiquantitativ</i>	Anzahl der Tubuli (n)	Anzahl der Tubuli (n)
Spermatogenese bis zu elongierten Spermatiden		
Spermatogenese bis zu runden Spermatiden		
Spermatogenese bis zu primären Spermatozyten		
Spermatogenese bis zu Spermatogonien		
Sertoli-Cell-Only-Tubuli		
Tubulusschatten		
Gesamtzahl der untersuchten Tubuli		
Score		
<i>Morphologische Differenzierung</i>		
Tubuli mit mehrkernigen Spermatiden		
Tubuli mit mehrkernigen primären Spermatozyten		
Tubuli mit mehrkernigen Spermatogonien		
Tubuli mit Megalospermatozyten		
Tubuli mit Megalospermatogonien		
Tubuli mit degenerierten Keimzellen		
Tubulusdivertikel		
Verdickung der Lamina propria		
Morphologie der Sertoli-Zellen		
Morphologie der Leydig-Zellen		
Interstitium		
Besonderheiten		
Beurteilung		

Abbildung 9: Beurteilungsbogen für Hodenbiopsien aus BERGMANN, M./KLIESCH, S. 1998

3.5.2. Vergleichsgruppen

Mit den ermittelten Spermatogenesedaten wurden Seitenunterschiede zwischen dem rechten (infizierten) und linken (nicht infizierten) Hoden untersucht.

Des Weiteren wurde untersucht, ob es Unterschiede zwischen behandelten und unbehandelten Tieren bezüglich des Spermatogenesecores gab.

Außerdem wurde untersucht, ob es einen Zeiteffekt bezüglich der Spermatogenese gab; d.h. es wurde untersucht, ob es Unterschiede oder Gemeinsamkeiten bezüglich der Spermatogenesestadien in den verschiedenen Tötungszeiträumen gab.

Zuletzt wurde die Korrelation zwischen Ausmaß der Orchitis und Ausmaß der Spermatogeneschädigung untersucht. Dies erfolgte mittels verschiedener statistischer Tests.

3.6. Statistik

Die gesamten Daten, Tabellen und Graphiken wurden in verschlüsselter Form in einer Exceldatei erfasst. Danach erfolgte die statistische Auswertung mit SPSS für Windows Version 6.13 in der Arbeitsgruppe medizinische Statistik des Institutes für medizinische Informatik der Justus-Liebig-Universität Gießen (Dr. R.-H. Bödeker) unter Mitarbeit von Herrn Pabst.

Alle untersuchten Parameter wurden für die deskriptive Statistik mit Hilfe von Mittelwert und Standardabweichung beschrieben. Dabei konnte für diese Parameter eine Normalverteilung vorausgesetzt werden.

Die Ablehnung oder die Beibehaltung der getesteten Hypothesen wurden anhand der berechneten Wahrscheinlichkeit für den Fehler erster Art „p“ ermittelt. Das Signifikanzniveau lag bei allen verwendeten statistischen Tests bei $p < 0,05$.

Der Einfluss von Behandlung und Tötungszeit auf die Entzündungsparameter und den Spermatogenesecore wurde mit Hilfe der 2-faktoriellen Varianzanalyse beurteilt.

Unterschiede zwischen dem rechten und linken Hoden wurden mit Hilfe des Vorzeichentests nach Wilcoxon beurteilt.

Für die Feststellung der Zusammenhänge zwischen dem Spermatogenesecore und den Entzündungsscores wurde der Spearman-Rang-Korrelationstest herangezogen. In Tabelle 11 sind Einzelheiten der verwendeten Tests aufgeführt.

Vorzeichentest (NPAR-Test)	Zeigt Unterschiede zwischen der rechten und linken Seite unabhängig von Therapie und Tötungszeit bzgl. Der Einzelscores der Entzündungsparameter.
U-Test nach Mann-Whitney	Zeigt Unterschiede zwischen den beiden Probandengruppen bzgl. der quantitativen Daten. In diesem Fall: Unterschiede zwischen behandelten und unbehandelten Tieren unabhängig von Seite und Tötungszeitpunkt bzgl. der Einzelscores der Entzündungsparameter und des Spermatogenescores.
H-Test nach Kruskal-Wallis	Beschreibt den Entzündungseffekt bzw. den Spermatogenescore im Zeitverlauf. Generell zeigt dieser Test Unterschiede zwischen den Probandengruppen bzgl. der quantitativen Daten, die keine Normalverteilung voraussetzen.
Wilcoxon-Test	Hier werden Unterschiede zwischen der rechten und linken Seite unabhängig von Behandlung und Tötungszeitpunkt bzgl. des Spermatogenescores gezeigt.
2-faktorielle Varianzanalyse	Beruhend auf diesen Test werden Zusammenhänge zwischen Spermatogeneschaden und Entzündungsgesamtscore auf der rechten Seite, der Einfluss von Tötungszeit und Behandlung auf den Entzündungsgesamtscore auf der rechten Seite und ein gewisser Zeiteffekt im Entzündungsgesamtscore unabhängig der Behandlung ermittelt.
Spearman-Rang-Test	Generell beurteilt dieser Test 2 Ordinal- oder Kardinalmerkmale auf Stärke und Richtung ihres monotonen Zusammenhangs. Hier werden Zusammenhänge zwischen dem Spermatogenescore und den Entzündungsparametern getestet

Tabelle 11: Statistische Tests

4 *Ergebnisse*

Die Ergebnisse werden gegliedert nach Ausprägung der Entzündung (Orchitis), Beurteilung der Spermatogenese und ihre Wechselwirkung zueinander. Abbildungen wurden nur bei signifikanten Ergebnissen eingefügt. Alle anderen Werte können den Tabellen 12 und 13 im Anhang entnommen werden.

Bereits in der Vorstudie wurde gezeigt, dass alle Hoden seitenunabhängig und therapieunabhängig steril waren. Alle Nebenhoden links (nicht infizierte Seite) waren therapieunabhängig auch steril. Alle antibiotisch therapierten Nebenhoden rechts (infizierte Seite) waren auch steril. Nur die rechten, infizierten Nebenhoden ohne antibiotische Therapie waren bis maximal 3 Monate post infectionem nicht steril.

4.1. Orchitis

4.1.1. Ausprägungsgrad der Orchitis im Seitenvergleich

Im Folgenden werden die Unterschiede zwischen rechtem (infizierte Seite) und linkem (nicht-infizierte Seite) Hoden unabhängig von Behandlung und Tötungszeitpunkt bezüglich der Einzelscores der Entzündungsparameter dargestellt.

Die Anzahl der Makrophagen ($p=0,0117$), B-Lymphozyten ($p=0,0215$) und T-Lymphozyten ($p=0,002$) unterschied sich signifikant auf beiden Seiten. Auf der nicht-infizierten Seite war der Einzelscore dieser Entzündungsparameter signifikant niedriger als auf der infizierten Seite (Abbildung 10-13). Bei den Granulozyten konnte ein signifikanter Unterschied nicht nachgewiesen werden ($p=0,1094$). Am deutlichsten war der Unterschied im Gesamtscore der Entzündungsparameter ($p=0,0001$). Die zuvor genannten Ergebnisse wurden mit dem Vorzeichen-Test (NPAR-Test) getestet.

Bei den Abbildungen ist zu bemerken, dass die Scores der Hoden aller untersuchten Tiere summiert dargestellt wurden.

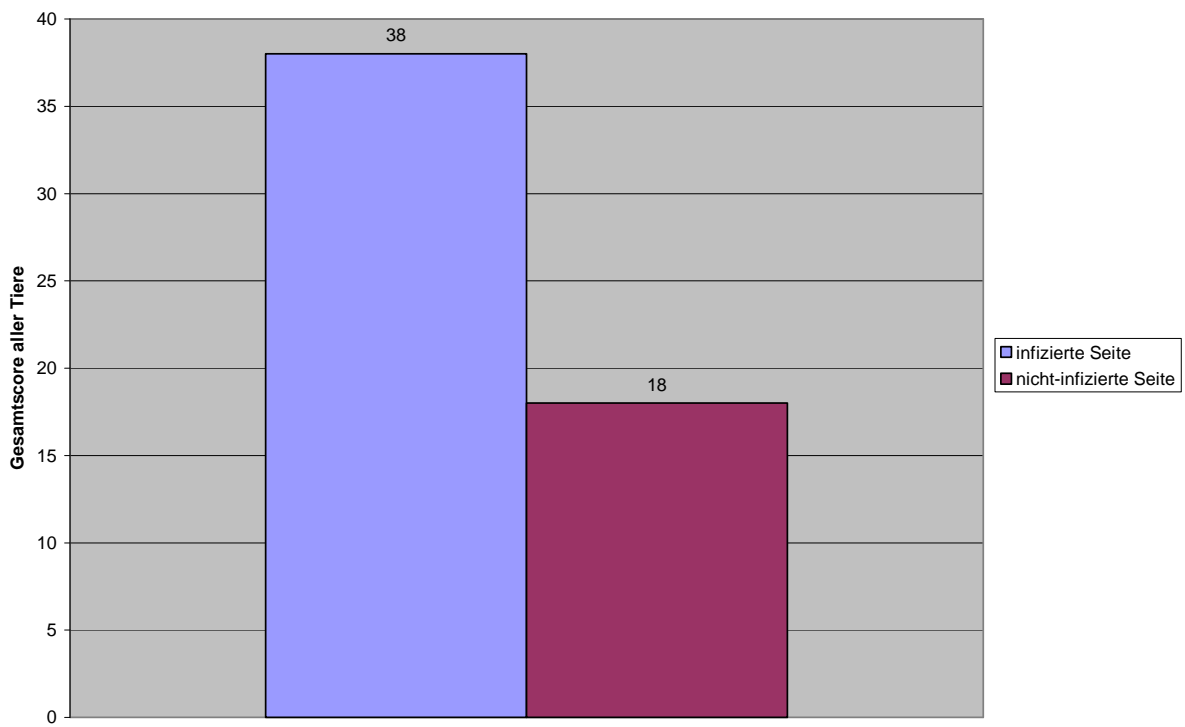


Abbildung 10: Makrophagen-Score im Seitenvergleich

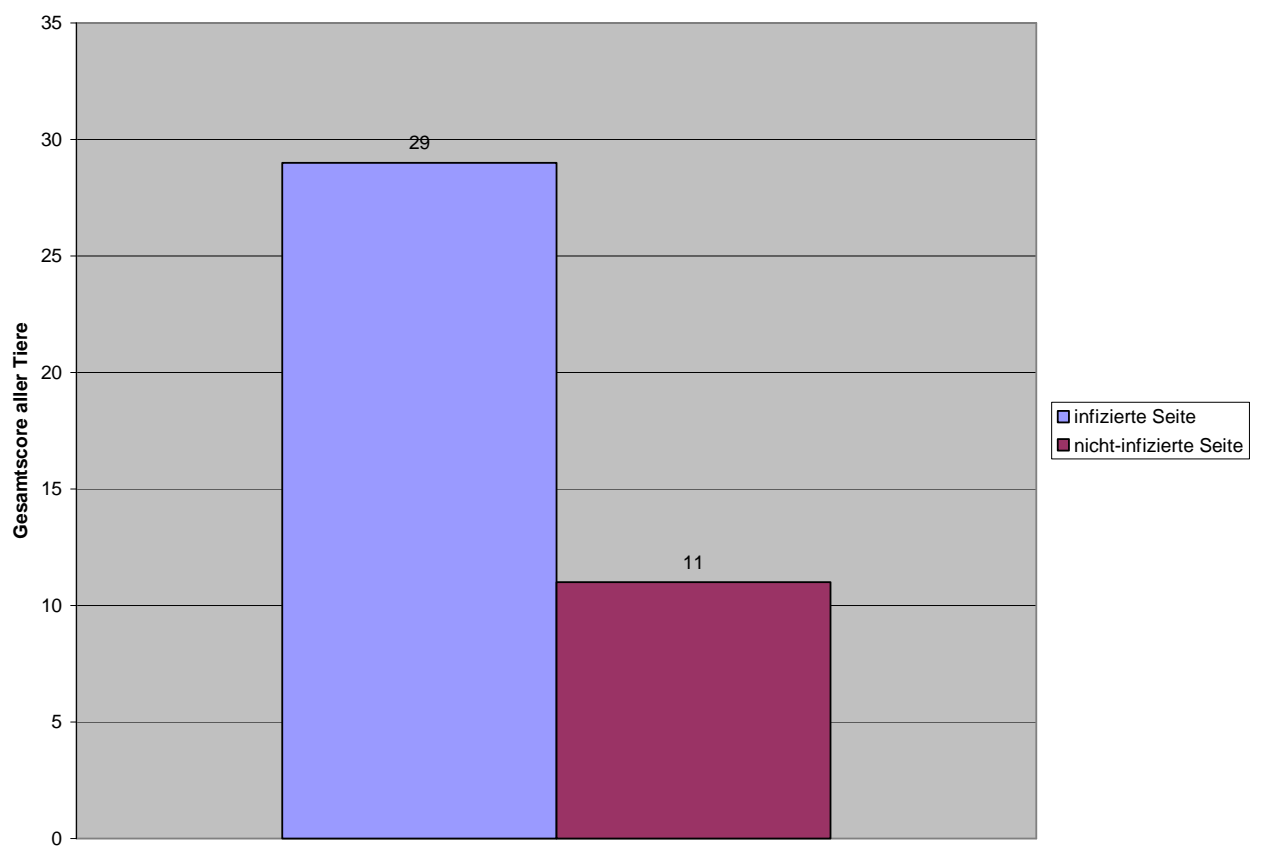


Abbildung 11: B-Lymphozytenscore im Seitenvergleich

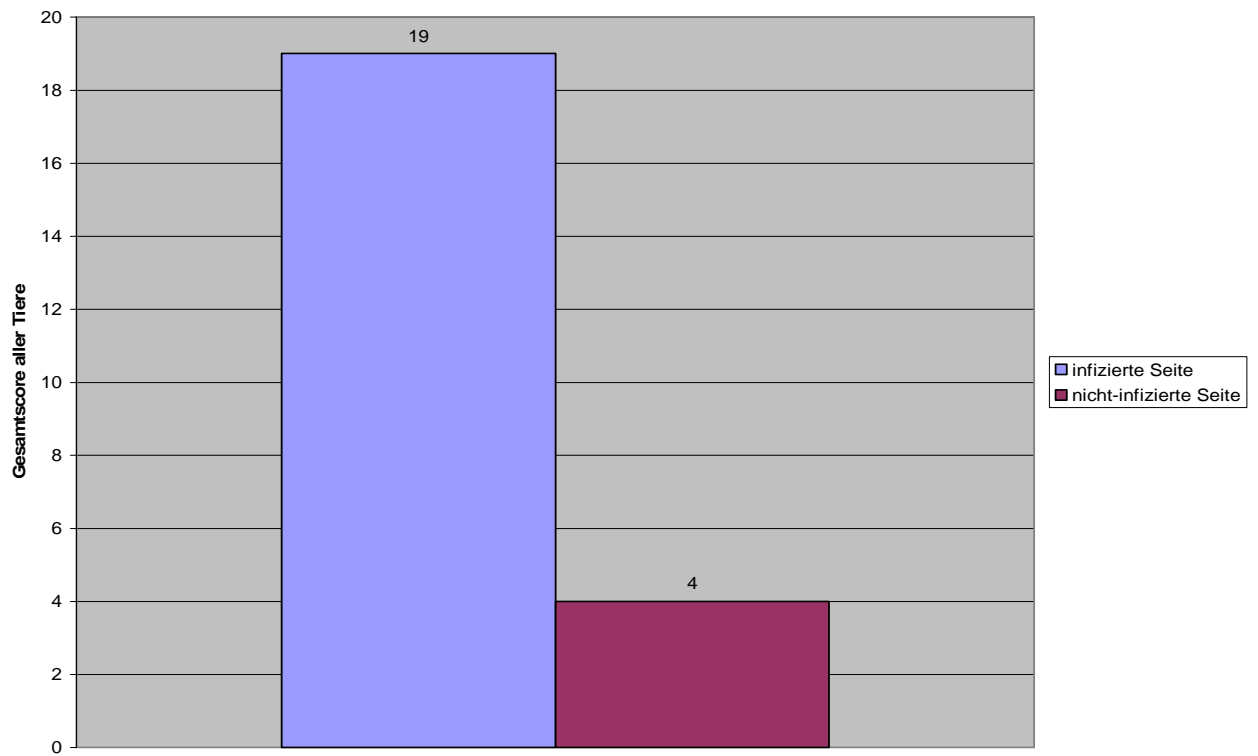


Abbildung 12: T-Lymphozytenscore im Seitenvergleich

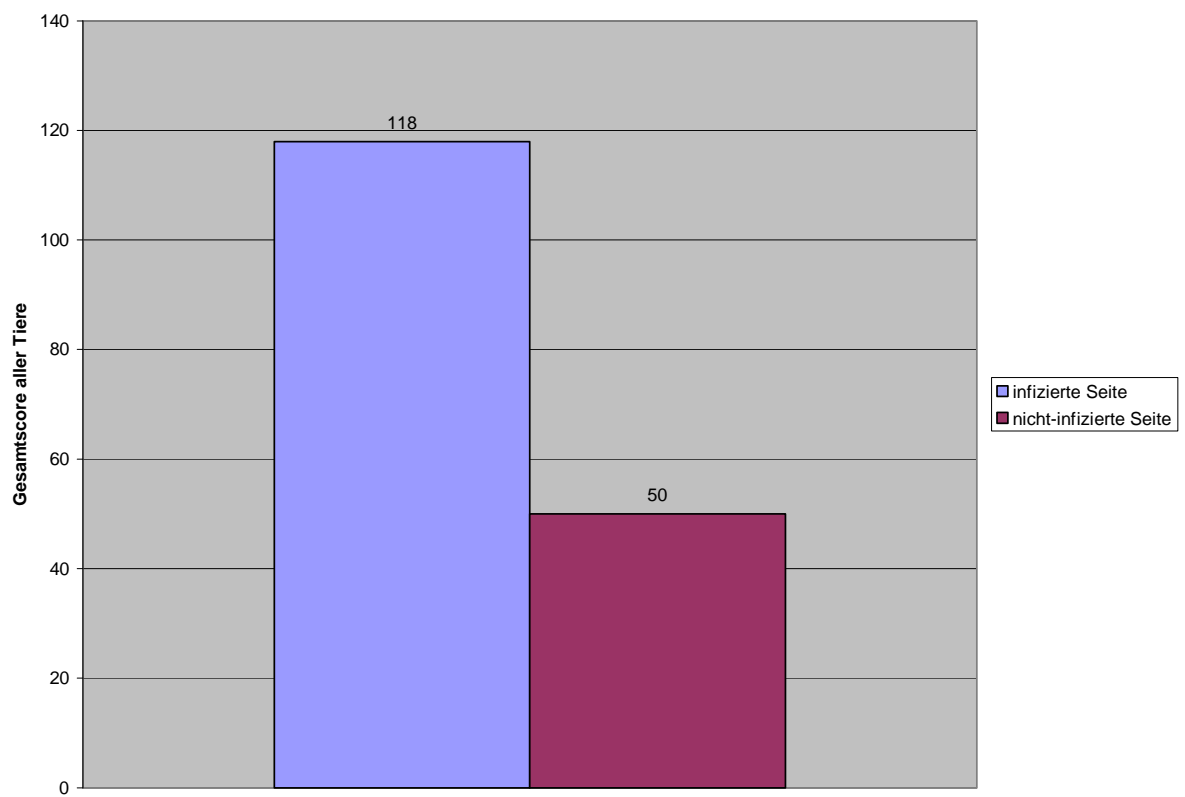


Abbildung 13: Gesamtscore aller Entzündungszellen im Seitenvergleich

4.1.2. Ausprägungsgrad der Orchitis in Abhängigkeit der Therapie

Die Unterschiede zwischen behandelten und unbehandelten Tieren bezüglich dem Einzelscore der Entzündungszellen unabhängig von Seite und Tötungszeitpunkt wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test untersucht.

Eine Signifikanz war bei den Makrophagen in den Hoden auf der infizierten, als auch auf der nicht-infizierten Seite nachweisbar. Bei den unbehandelten Hoden der infizierten Seite wurde ein signifikant ($p=0,0140$) höherer Makrophagen-Score ermittelt als bei den behandelten Hoden der infizierten Seite.

Bei den behandelten Hoden der nicht-infizierten Seite wurde ein signifikant ($p=0,0099$) höherer Makrophagen-Score als bei den unbehandelten Hoden der nicht-infizierten Seite festgestellt (siehe Abbildungen 14 und 15).

Bei den Granulozyten, B- und T-Lymphozyten und im Gesamtscore der Entzündungszellen zeigten sich diesbezüglich keine signifikanten Unterschiede zwischen therapierten und nicht therapierten Tieren (Granulozyten infizierte Seite $p=0,8484$, Granulozyten nicht infizierte Seite $p=0,1120$, B-Lymphozyten infizierte Seite $p=0,7149$, B-Lymphozyten nicht infizierte Seite $p=0,2743$, T-Lymphozyten infizierte Seite $p=0,6836$, T-Lymphozyten nicht infizierte Seite $p=0,2705$, Entzündungsgesamtscore infizierte Seite $p=0,5018$, Entzündungsgesamtscore nicht-infizierte Seite $p=0,2184$).

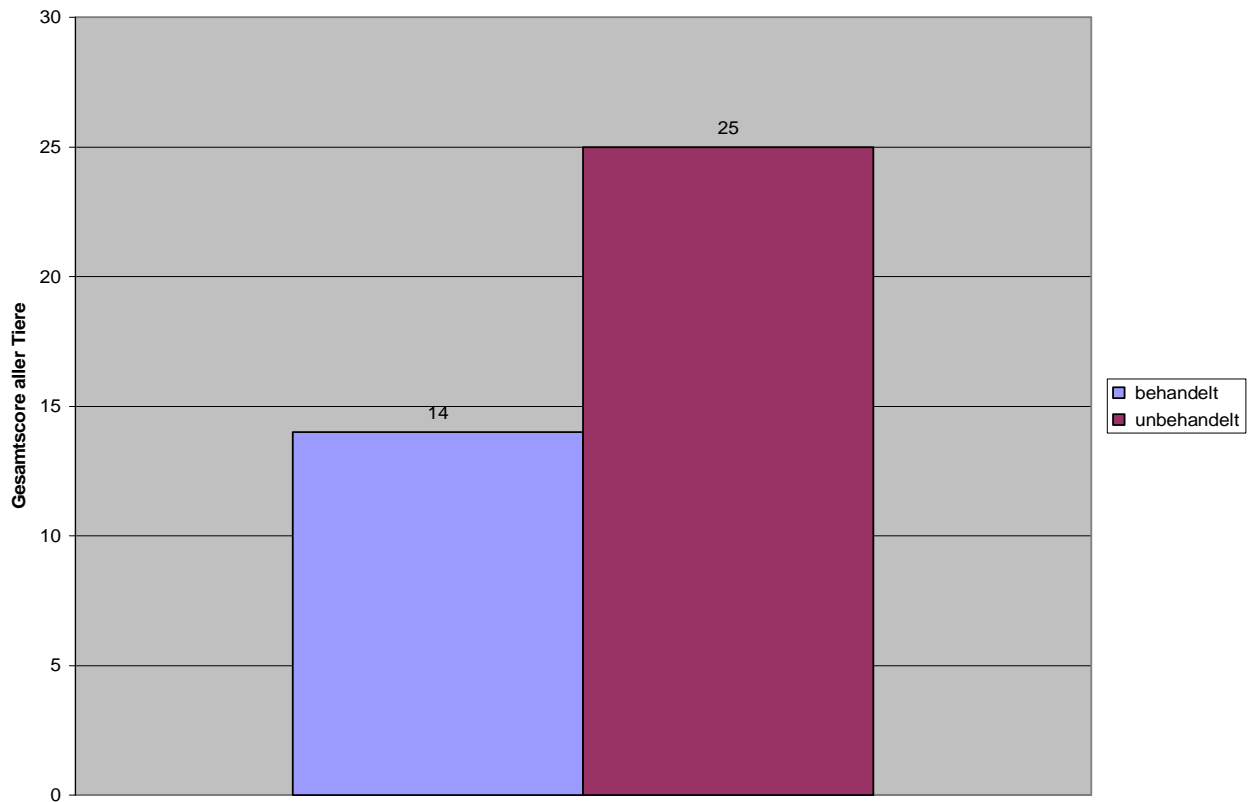


Abbildung 14: Makrophagen-Score der infizierten Seite in Abhängigkeit der Therapie

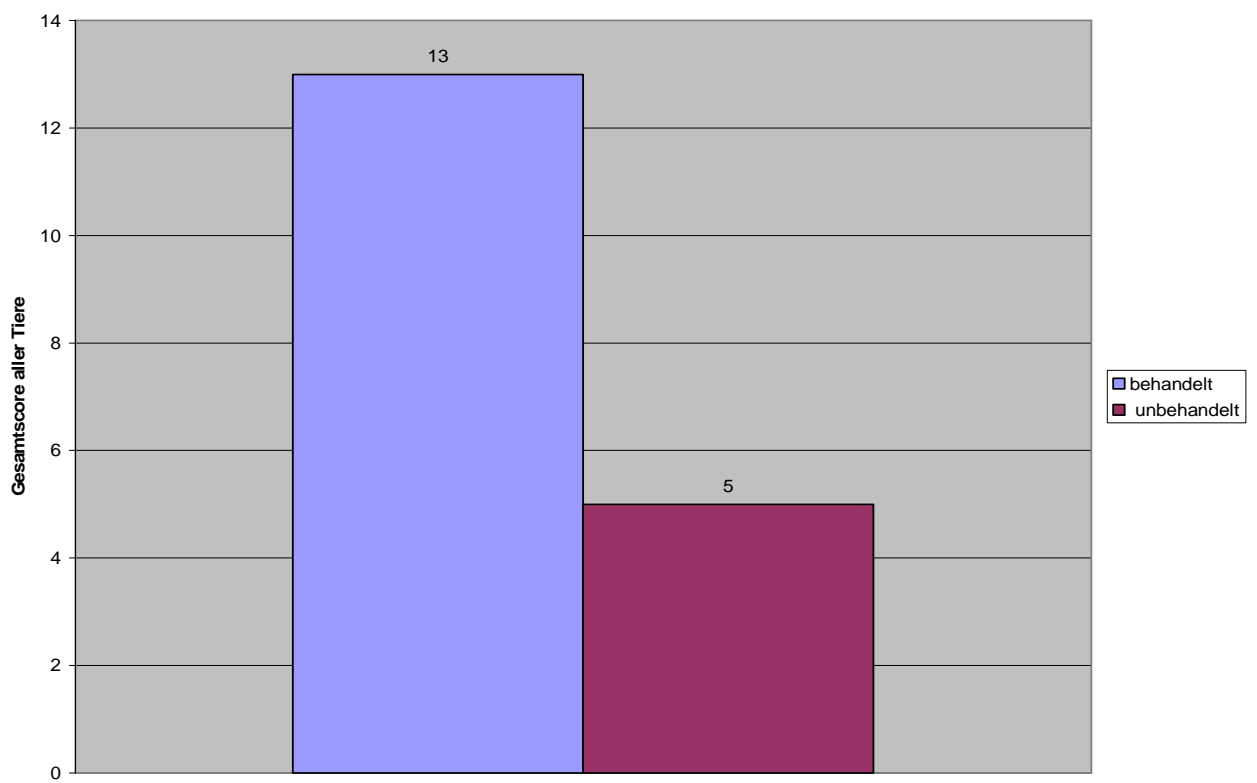


Abbildung 15: Makrophagen-Score der nicht-infizierten Seite in Abhängigkeit der Therapie

4.1.3. Ausprägungsgrad der Orchitis im Zeitverlauf

Der Entzündungseffekt im Zeitverlauf wurde statistisch mit dem Kruskal-Wallis-Test ermittelt.

Bei den Hoden auf der infizierten Seite konnte ein signifikanter Unterschied der Granulozytenscores zu den verschiedenen Tötungszeitpunkten nachgewiesen werden. Mit zunehmendem Tötungszeitpunkt stieg der Score für die Entzündung ($p=0,022$). D.h. später getötete Tiere zeigten auf der infizierten Seite eine höhere Granulozytenanzahl in den Hoden als früher getötete Tiere (siehe Abbildung 16).

Bei den Hoden auf der nicht-infizierten Seite waren die Granulozytenscores nicht signifikant unterschiedlich zu den verschiedenen Tötungszeitpunkten ($p=0,109$) (Abbildung 16).

Außerdem gab es auch keine signifikanten Ergebnisse im Entzündungsgesamtscore (infizierte Seite $p=0,067$, nicht-infizierte Seite $p=0,063$), bei den Makrophagen (infizierte Seite $p=0,729$, nicht-infizierte Seite $p=0,498$), bei den B-Lymphozyten (infizierte Seite $p=0,2388$, nicht-infizierte Seite $p=0,547$) und T-Lymphozyten (infizierte Seite $p=0,318$, nicht-infizierte Seite $p=0,297$).

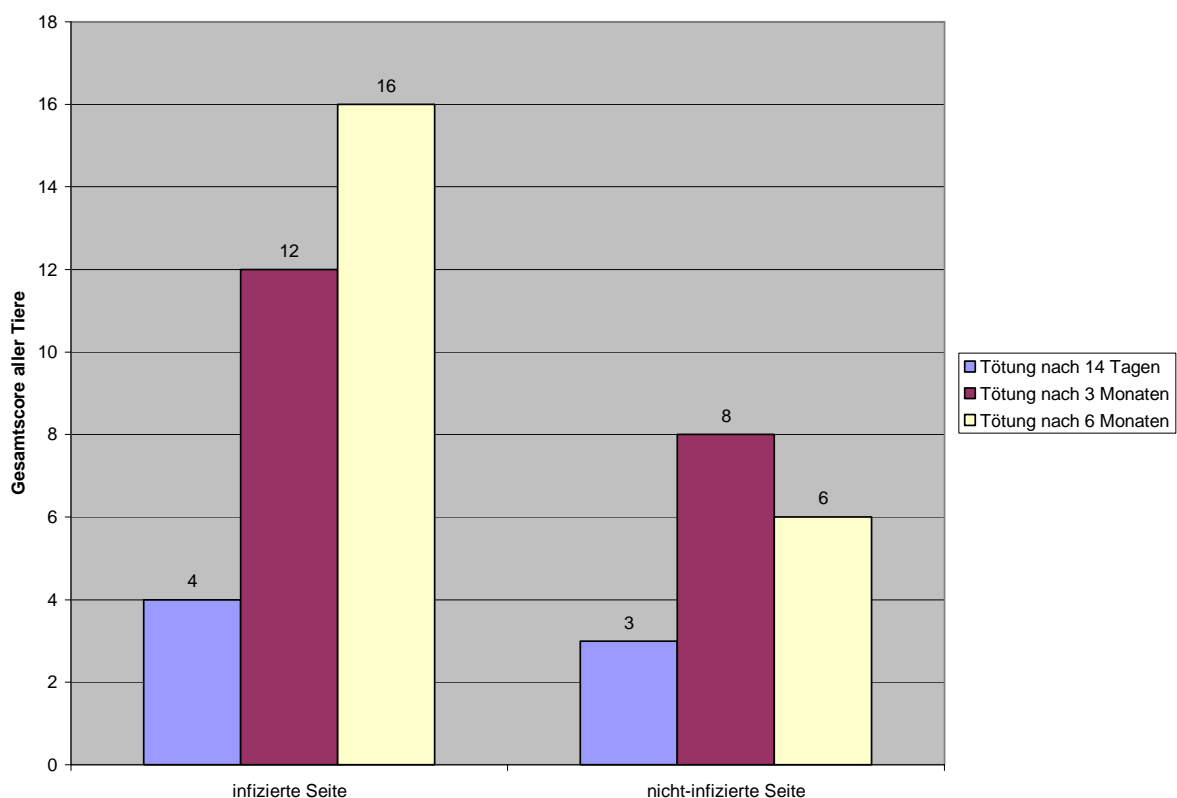


Abbildung 16: Granulozyten-Score im Zeitverlauf unabhängig der Therapie

4.2. Spermatogeneseschädigung

4.2.1. Ausprägungsgrad der Schädigung im Seitenvergleich

Mit Hilfe des Wilcoxon-Tests wurden Unterschiede der Spermatogenesescores zwischen den Hoden der infizierten und nicht-infizierten Seite unabhängig von Behandlung und Tötungszeitpunkt untersucht.

Bei den Hoden der nicht-infizierten Seite war der Spermatogenesescore signifikant höher als bei den Hoden der infizierten Seite ($p=0,0029$) (siehe Abbildung 17).

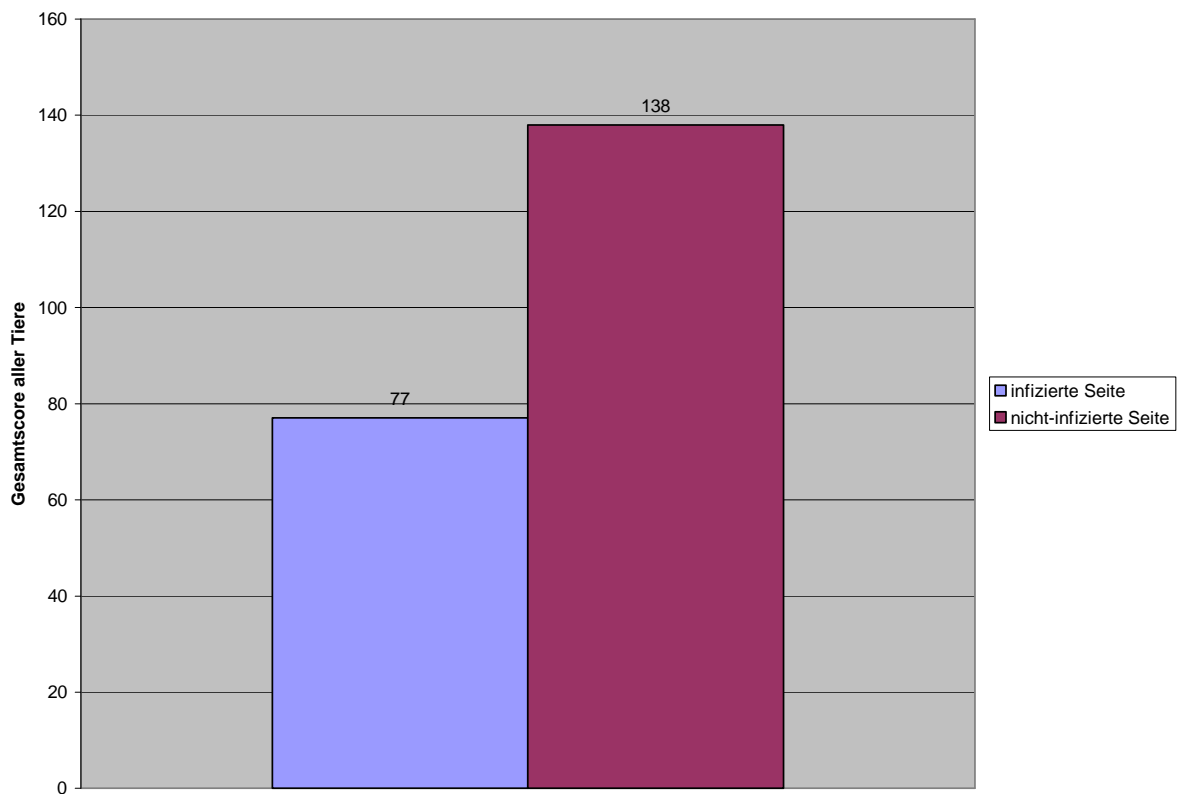


Abbildung 17: Spermatogenesescore im Seitenvergleich

4.2.2. Ausprägungsgrad der Schädigung in Abhängigkeit der Therapie

Die Unterschiede zwischen behandelten und unbehandelten Tieren bezüglich der Spermatogeneschädigung wurden unabhängig vom Tötungszeitpunkt mit dem U-Test nach Mann-Whitney untersucht.

Bei den Hoden der infizierten Seite gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen behandelten und unbehandelten Tieren ($p=0,5617$).

Bei den Hoden der nicht-infizierten Seite war der Spermatogenescore bei den unbehandelten Tieren signifikant höher als bei den behandelten Tieren ($p=0,0308$) (siehe Abbildung 18).

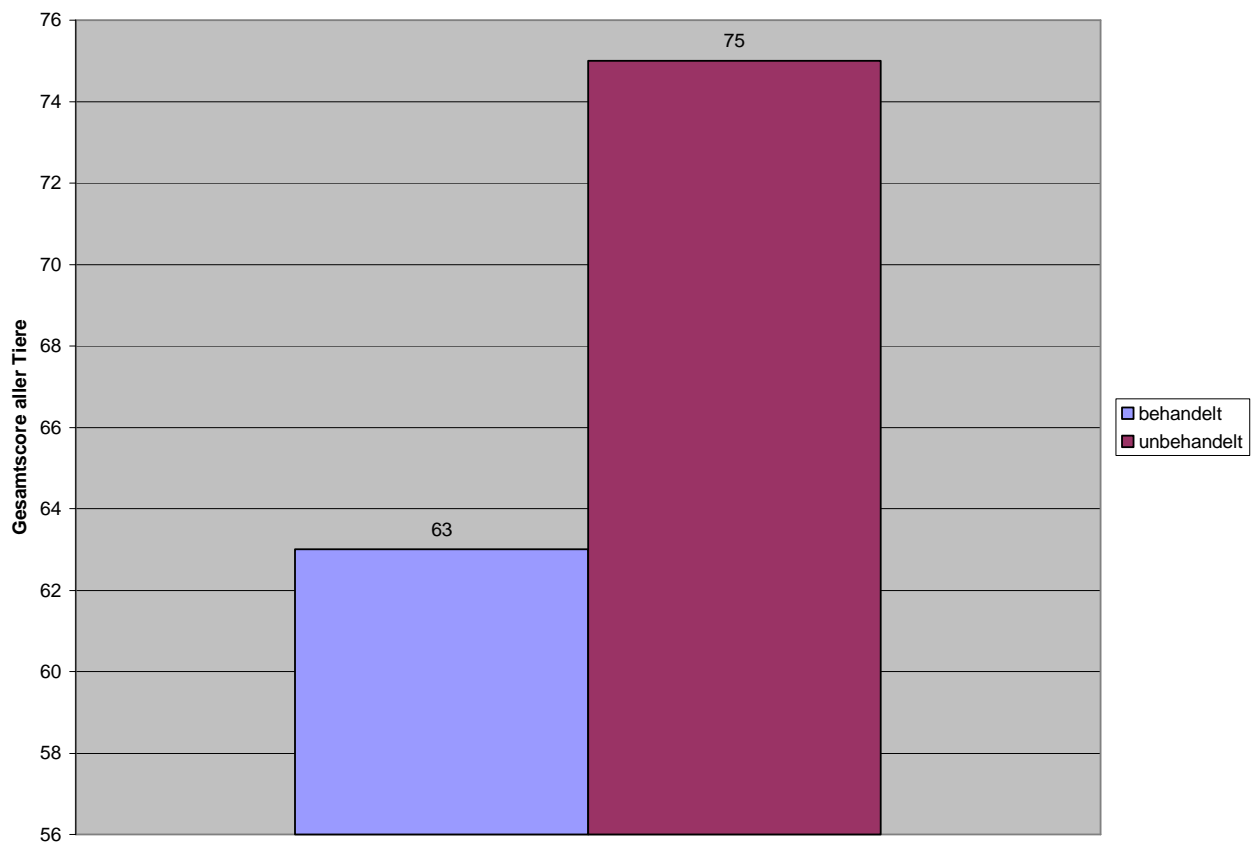


Abbildung 18: Spermatogenescore der nicht-infizierten Seite im Therapievergleich

4.2.3. Ausprägungsgrad der Schädigung im Zeitverlauf

Die Unterschiede im Zeitverlauf bezüglich der Spermatogeneschädigung wurden mit dem Kruskal-Wallis-Test bearbeitet.

Hier gab es keine signifikanten Spermatogeneseeffekte zwischen infizierter ($p=0,444$) und nicht-infizierter Seite ($p=0,496$) im Zeitverlauf.

Genauso waren auch keine signifikanten Spermatogeneseeffekte zwischen behandelten ($p=0,797$) und unbehandelten Tieren ($p=0,258$) im Zeitverlauf festzustellen.

4.3. Wechselwirkung zwischen Entzündung und Spermatogenese

Der Zusammenhang einer Wechselwirkung zwischen der Entzündung und Spermatogenese wurde mit der 2-faktoriellen Varianzanalyse getestet.

Einen signifikanten Zusammenhang zwischen Spermatogenescore und dem Gesamtentzündungsscore konnte man auf der infizierten rechten Seite erkennen. Je höher der Entzündungsscore ausfiel, desto niedriger war der Spermatogenescore ($p<0,001$). D.h. je mehr Entzündungszellen im rechten Hoden (infizierte Seite) vorhanden waren, desto größer war der Spermatogeneschaden des gleichen Hodens (siehe Abbildung 19).

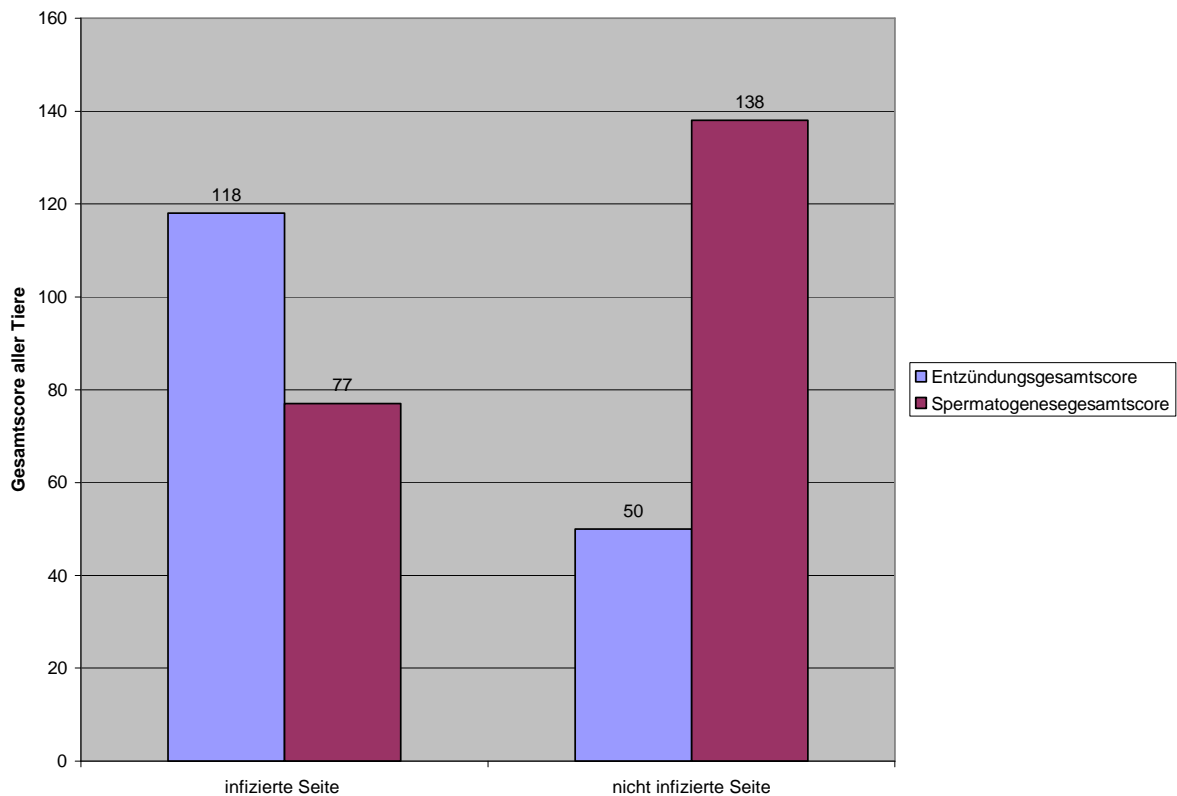


Abbildung 19: Wechselwirkung zwischen Entzündung und Spermatogenese im Seitenvergleich

Außerdem wurde der Einfluss von Tötungszeitpunkt und Behandlung der Tiere auf den Entzündungsgesamtscore auf der infizierten Seite untersucht.

Hinsichtlich des Tötungszeitpunktes konnte kein statistisch signifikanter Zeiteffekt bei den unbehandelten Tieren festgestellt werden ($p=0,367$). Mit steigendem Tötungszeitpunkt konnte bei den unbehandelten Tieren zwar absolut ein höherer Entzündungsscore nachgewiesen werden, jedoch war dieses Ergebnis statistisch nicht signifikant.

Ein gewisser Zeiteffekt war auch im Gesamtscore der Entzündungszellen unabhängig der Behandlung nachzuweisen, der jedoch knapp die Signifikanzmarke verfehlte. Bei späterer Tötung der Tiere wurde der Gesamtscore der Entzündungszellen

höher, wohingegen der Spermatogenesescore niedriger wurde ($p=0,052$) (siehe Abbildung 20).

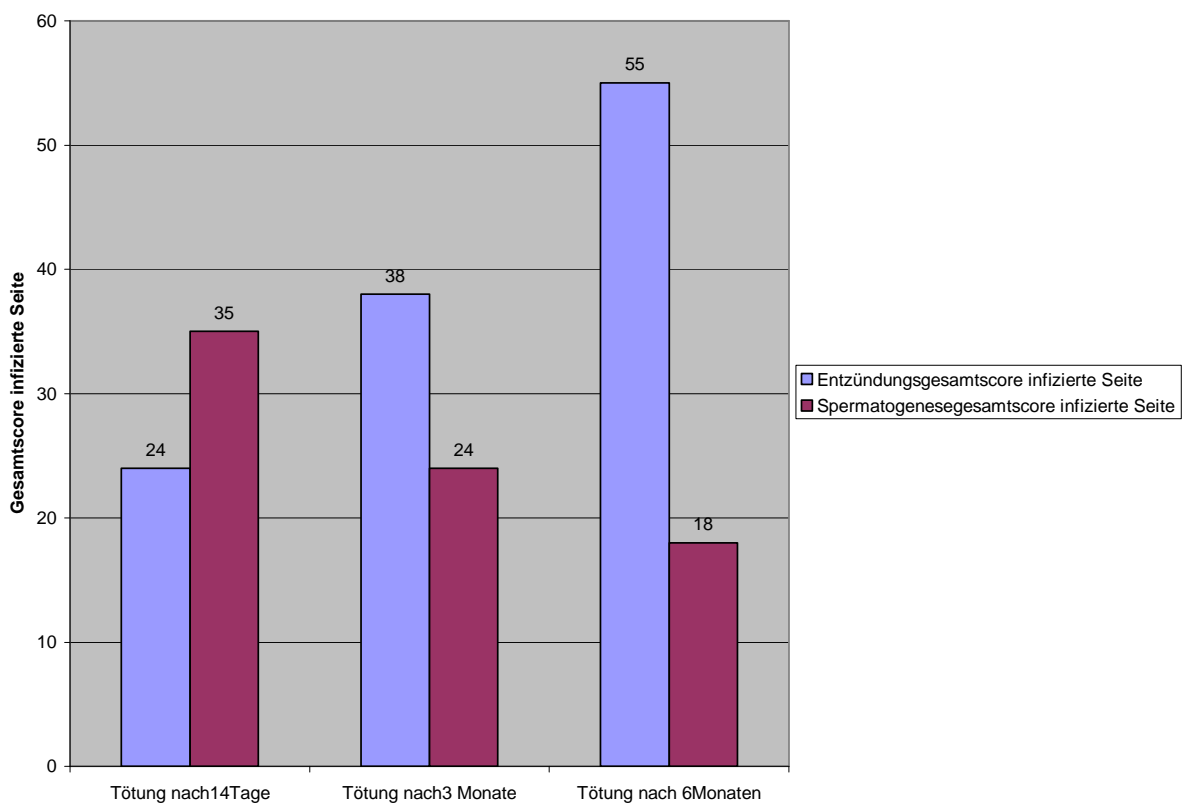


Abbildung 20: Wechselwirkung zwischen Entzündung und Spermatogenese im Zeitverlauf auf der infizierten Seite unabhängig der Therapie

Außerdem war ein leichter Abfall des Spermatogenescores auf der infizierten Seite der unbehandelten Tiere zu späteren Tötungszeitpunkten zu erkennen, was jedoch aufgrund der geringen Fallzahl und der extremen Streuung der Werte statistisch nicht signifikant war ($p=0,797$). Je später die Tiere getötet wurden, desto schlechter war die Spermatogenese auf der infizierten Seite nicht-therapierter Tiere.

Diesbezüglich konnten auch auf der nicht-infizierten Seite mit Hilfe der 2-faktoriellen Varianzanalyse keine signifikanten Zusammenhänge und Effekte nachgewiesen werden ($p=0,744$).

Folgende Ergebnisse lassen sich bezüglich der Entzündungsreaktion (Orchitis) zusammenfassen:

1. Der Score der einzelnen Entzündungszellen (bis auf Granulozyten) und der Entzündungsgesamtscore waren auf der infizierten Seite (rechts) signifikant höher als auf der nicht-infizierten (linken) Seite (siehe Abszess in Abbildung 21-23 im Anhang).
2. Die unbehandelten Hoden der infizierten Seite zeigten signifikant höhere Makrophagenwerte als die behandelten Hoden der gleichen Seite. Auf der nicht-infizierten Seite waren die Makrophagenwerte der behandelten Gruppe signifikant höher als die Hoden der unbehandelten Gruppe der gleichen Seite.
3. Mit zunehmendem Tötungszeitraum stieg der Granulozyten-Score auf der infizierten Seite signifikant unabhängig von der Therapie. D.h. je später die Tiere getötet wurden, desto schwerer war die Inflammation im infizierten Hoden, unabhängig der Therapie.

Folgende Ergebnisse lassen sich bezüglich der Spermatogenese zusammenfassen:

1. Der Spermatogenesecore auf der infizierten Seite war signifikant niedriger als auf der nicht-infizierten Seite (siehe SCO-Tubuli in Abbildung 24 im Anhang).
2. Die unbehandelten Hoden der nicht-infizierten Seite zeigten signifikant höhere Spermatogenesecores als die behandelten Hoden der gleichen Seite (siehe intakte Spermatogenese in Abbildung 25 und 26 im Anhang).

Folgende Ergebnisse lassen sich bezüglich einer Wechselwirkung zwischen Entzündung und Spermatogenese zusammenfassen:

1. Eine statistisch signifikante Korrelation zwischen Entzündung und Spermatogenese zeigte sich nur auf der rechten (infizierten) Seite. Je mehr Entzündungszellen vorhanden waren, desto niedriger war der Spermatogenesecore.
2. Bei späterer Tötung der Tiere war der Gesamtscore der Entzündungszellen höher, wohingegen der Spermatogenesecore im Zeitverlauf niedriger wurde.

5 *Diskussion*

In dieser Studie wurde eine experimentelle, unilaterale *Escherichia coli* Epididymitis bei Ratten und die Auswirkung der Antibiotikatherapie auf die Begleitorchitis unter besonderer Berücksichtigung der Spermatogenese untersucht.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass eine experimentell mit *E. coli* induzierte Epididymitis eine akute Begleitorchitis mit Veränderungen der Spermatogenese verursachen kann.

Sowohl im Hoden als auch im Nebenhoden wurde auch auf der nicht-infizierten Seite eine leichte entzündliche Reaktion festgestellt. Dabei waren aber beide Organe auf dieser Seite vollkommen steril und die Spermatogenese war nicht wesentlich beeinträchtigt.

Im Vergleich zur nicht-infizierten Seite wurde auf der infizierten Seite im Nebenhoden eine massive Entzündung festgestellt, die von einer signifikanten Entzündungszunahme des Hodens begleitet war.

Obwohl *E. coli* in Richtung des rechten Nebenhodens (Ductus deferens) eingebracht wurden, konnten bei allen Hoden therapieunabhängig sowohl links als auch rechts keine Erreger mehr angezüchtet werden.

Zu keinem Zeitpunkt waren bei den therapierten Tieren Erreger im rechten (infizierten) Nebenhoden und Hoden nachweisbar. In allen Hoden der nicht-therapierten Tiere waren seitenunabhängig keine Keime nachweisbar.

14 Tage nach Infektion waren alle rechten Nebenhoden der nicht-behandelten Gruppe infiziert (nicht steril). Die Hoden waren jedoch steril.

3 Monate nach Infektion war der rechte Nebenhoden von 8 nicht-behandelten Tieren steril. In den Hoden waren weiterhin keine Keime nachweisbar.

Nach 6 Monaten waren alle rechten Nebenhoden der 10 nicht-behandelten Tiere ebenfalls steril. Auch alle Hoden waren steril.

In Verbindung mit der Präsenz von Entzündungszellen war außerdem im rechten Hoden die Spermatogenese signifikant reduziert.

Die zelluläre Entzündung war in den Hoden auf der nicht infizierten Seite signifikant geringer ausgeprägt als rechts.

Bezüglich der Spermatogenese konnte links unabhängig von Behandlung und Tötungszeitpunkt generell ein höherer Score als rechts ermittelt werden. Dies war bei einer rechtsseitig induzierten Epididymitis zu erwarten.

Der signifikant höhere Makrophagenbefall der rechten unbehandelten Hoden im Vergleich zu den rechten behandelten Hoden zeigt deutlich das Ansprechen der antibiotischen Therapie mit Sparfloxacin.

Die linken behandelten Hoden zeigen eine höhere Makrophagenzahl als die linken Hoden der unbehandelten Gruppe. Zudem weisen die linken unbehandelten Hoden weniger Spermatogeneseschäden als die linken behandelten Hoden auf.

Diese Gegebenheiten lassen einige Fragen offen:

- Können Antibiotika wie z.B. Sparfloxacin im gesunden Hoden eine Inflammation auslösen und dadurch die Spermatogenese nachhaltig schädigen?
- Ist die Makrophagenanreicherung ein Ergebnis des „Überspringens“ der Entzündung auf die kontralaterale Seite?
- Was ist die Ursache der Spermatogeneseschäden im Hoden auf der infizierten Seite?
- Ist dies eine direkte Schädigung durch Bakterien?
- Wenn ja, können hierbei bakterielle Toxine dafür verantwortlich gemacht werden?
- Oder ist es ein mechanisches Problem, welches durch ödematöse Schwellung verursacht wird?
- In wie weit spielen immunologische Prozesse eine Rolle?

Abd-Allah zeigte bereits in einer Studie, dass die Gabe von Ciprofloxacin bei Ratten über 15 Tage zu Motilitätsstörungen und Spermienzahlabfall führt. Möglicherweise ist dies durch Veränderungen der DNS und Chromosomenaberrationen zu begründen (ABD-ALLAH 2000). Auch hier ist zu diskutieren, ob Sparfloxacin Auswirkungen auf die Spermatogenese hat. So könnte man eine höhere Makrophagenanreicherung im nicht-infizierten aber behandelten Hoden erklären. Zudem könnte das auch der Grund sein, wieso die behandelten Hoden der nicht-infizierten Seite schlechtere Spermatogenesewerte zeigen als die unbehandelten Hoden der gleichen Seite. Bei beidseits sterilen Hoden könnte sicher an eine Schädigung des Keimepithels durch Antibiotika gedacht werden.

Demir fand Effekte von Ciprofloxacin auf die testikuläre Funktion heraus. Er untersuchte 24 Ratten mit experimentell induzierter Epididymo-Orchitis und deren Effekte auf die Spermatogenese in 4 Gruppen: eine Kontrollgruppe mit Durchführung einer linksseitigen Orchiectomie; eine Ciprofloxacingruppe mit Durchführung einer linksseitigen Orchiectomie; zwei Epididymo-Orchitis-Gruppen mit und ohne Therapie (Ciprofloxacin) und beidseitiger Orchiectomie.

Bei den gesunden Ratten verursachte Ciprofloxacin einen erkennbaren histologischen Schaden (Hodenatrophie, Abnahme der Spermienkonzentration).

Eine Ciprofloxacintherapie bei Epididymo-Orchitis im Rattenmodell war bezüglich histomorphologischer Befunde nicht vorteilhaft und wurde als gonadotoxisch beschrieben.

Diesbezüglich werden auch immunologische Prozesse diskutiert, die den kontralateralen Schaden des Hodens erklären könnten (DEMIR 2007).

Bezüglich Sparfloxacin liegen keine Studien vor, die eine gonadotoxische Wirkung sicher belegen. Sparfloxacin und Ciprofloxacin gehören beide in die Gruppe der Fluorochinolone und hemmen die Gyrase von Bakterien und somit die DNA-Replikation und Zellteilung. Beide Wirkstoffe sind von ihrer Molekularstruktur sehr ähnlich aufgebaut. Sparfloxacin zeichnet sich vor allem durch eine verbesserte Aktivität gegenüber Pneumokokken atypische Erreger der Pneumonie aus. Aufgrund dieser strukturellen Ähnlichkeiten können beide Antibiotika hinsichtlich eines gonadotoxischen Potentials möglicherweise vergleichbar sein.

Ein deutlicher Zusammenhang war zwischen dem testikulären Schaden und dem Vorhandensein von Entzündungszellen zu sehen. Je höher die Anzahl der Entzündungszellen war, desto niedriger war der Spermatogenesecore.

In der Untersuchung der testikulären Funktion nach unilateraler bakterieller Epididymo-Orchitis an 30 Patienten, die mit Cefotaxim i.m. behandelt wurden, zeigte OSEGBE, dass das inflammatorische Ödem, welches im Hoden im akuten Stadium nachgewiesen wurde, das kanalikuläre System verengt haben könnte und somit zu einer initialen Azoospermie geführt hat. Außerdem kam es durch die antibiotische Therapie und Auflösung des Ödems eine Woche nach Therapie zur Entlastung des kanalikulären Systems, was folglich zu einem Anstieg der Spermienzahl führte.

Aufgrund meiner Untersuchungsergebnisse in dieser Studie kann diese Fragestellung nicht beantwortet werden, da die Hoden erst frühestens 14 Tage nach Infektion entnommen wurden und zudem auch keine Bestimmung der Spermienanzahl im Ejakulat erfolgte.

Ein zweiter Abfall der Spermienanzahl in der sechsten Woche nach Therapiebeginn repräsentierte laut OSEGBE den tubulären Schaden des Hodens trotz initialer Antibiotikatherapie (OSEGBE 1991).

Dieser Effekt ist auch in meiner Arbeit nachweisbar. Auf der infizierten Seite ist ein tubulärer Schaden bis hin zu SCO-Tubuli signifikant nachgewiesen. Jedoch liegt die Ursache sicher in der Schädigung des Keimepithels, was durch histologische Untersuchungen nachgewiesen wurde. Eventuell sind Spermienzahlreduktionen auch im akuten Stadium nicht auf obstruktive Prozesse zurückzuführen.

Ein obstruktiver Prozess, wie sie OSEGBE im akuten Stadium begründet, kann bei derartiger direkter Schädigung des Keimepithels sicher ausgeschlossen werden.

Es bleibt zu klären, welche Ursachen es für den direkten tubulären Schaden gibt.

WEIDNER machte 1990 die entzündliche Mitreaktion des Hodens für Spermatogenesestörungen nach akut einseitiger Epididymitis trotz erregergerechter Therapie mit Ofloxacin verantwortlich. Dabei diskutierte er bereits damals entzündlich bedingte, toxische und autoallergische Schädigungen des Hodenparenchyms, die gegebenenfalls bis zu einer irreversiblen Tubulussklerose führen könnten. (WEIDNER 1990).

Aktuelle Studien zeigen, dass neben zellulären Reaktionen auch autoimmune Reaktionen Schädigungen der Spermatogenese verursachen könnten.

FIJAK und MEINHARDT zeigen, dass neben der anatomischen Blut-Hoden-Schranke komplexe Regelmechanismen (u.a. Zytokine und Androgene) für die Funktion und Aufrechterhaltung der Immuntoleranz des Hodens erforderlich sind, was einer funktionellen Blut-Hoden-Schranke entspricht (FIJAK et MEINHARDT 2006).

Toll-like Rezeptoren spielen laut BHUSHAN eine entscheidende Rolle in der angeborenen Immunität auch des Hodens. Diese Rezeptoren befinden sich auch im Hoden nicht nur an den Immunzellen (z.B. Makrophagen), sondern auch z.B. an somatischen Zellen. In Anwesenheit von bakteriellen Infektionen wird in diesem Zusammenhang die Wirkung auf die männliche Infertilität diskutiert (BHUSHAN et al. 2008 A).

Die Arbeitsgruppe von Prof. Dr. A. Meinhardt untersuchte 2008 unterschiedliche Zelltypen des Hodens und zeigte, dass diese jeweils mindestens zwei verschiedene TLRs aufwiesen.

E. coli Bakterien konnten eine entzündungsfördernde, anti-bakterielle Immunantwort der Hodenzellen unterdrücken, obwohl die bakteriellen Oberflächenmoleküle der TLRs erkannt

wurden. Es wurden Botenstoffe freigesetzt, die eher typisch für einen viralen Infekt waren. Auf diese Weise können Bakterien offensichtlich eine wirksame Immunantwort der Hodenzellen gegen sich unterbinden.

In diesem in vitro Modell konnten uropathogene E.coli Bakterien aktiv die MyD88-abhängige Signalkette supprimieren. Dadurch wurde die proinflammatorische Zytokinsekretion durch testikuläre Zellen verhindert (BHUSHAN et al. 2008).

Zu diskutieren bleibt jedoch weiterhin, was die direkte Keimepithelschädigung in dieser Studie verursacht hat. Da die Hoden sowohl der infizierten als auch der nicht-infizierten Seite bereits nach 14 Tagen kulturell steril waren, ist offensichtlich eine effektive antibakterielle Immunabwehr erfolgt. Inwieweit eine direkte toxische Schädigung des Keimepithels durch Bakterien oder Bakterienbestandteile in den ersten Tagen erfolgt ist, lässt sich in diesem Versuchsaufbau nicht beantworten. Vielmehr scheint jedoch eine immunologische Schädigung wahrscheinlich, da sich auf der infizierten Seite eine enorme Anzahl an Entzündungszellen findet. Entzündungszellen können z.B. über die Produktion von reaktiven Sauerstoff-Spezies Schaden am Keimepithel und interstitiellen Zellen verursachen. Dies konnte in verschiedenen Studien nachgewiesen werden (PRILLAMAN et al. 1997; KOPPERS et al. 2008; DIEMER et al. 2003C). Die Untersuchung des genauen Pathomechanismus ist derzeit Gegenstand der Forschung.

6 *Zusammenfassung*

In der Vorstudie unserer Arbeitsgruppe („Experimentelle E. coli – Epididymitis bei Ratten unter Einfluss von Sparfloxacin“, 1999) wurde beschrieben, dass eine experimentelle E. coli Epididymitis zu persistierenden Mikroorganismen im Nebenhoden führen kann. Obwohl die inflammatorische Reaktion durch effektive Antibiotikatherapie mit SPFX vermindert war, konnte eine Nebenhodenschädigung nicht verhindert werden.

Wesentliches Ziel dieser Arbeit war es den Grad der Begleitorchitis und des Spermatogeneseschadens in Abhängigkeit von der antibiotischen Therapie zu evaluieren.

Dazu wurde bei 18 männlichen Sprague-Dawley Ratten durch Injektion von E. coli Bakterien in den rechten Ductus deferens in Richtung Nebenhoden eine Epididymitis induziert. Nach 24 Stunden wurde bei der Hälfte der Tiere eine 7-tägige Antibiotikatherapie mit Sparfloxacin begonnen. Die andere Hälfte blieb unbehandelt als Kontrollgruppe. Die Tiere wurden randomisiert 14 Tage, 3 und 6 Monate nach Injektion geopfert. In den rechten Hoden/Nebenhoden der therapierten und nicht therapierten Tiere wurden Entzündungszellen (Granulozyten, Makrophagen, B- und T-Lymphozyten) und die Spermatogenese beurteilt. Die linken Hoden/Nebenhoden galten als intraindividuelle Kontrolle.

Die Hoden/Nebenhoden der linken (nicht-infizierten) Seite waren trotz einer leichten Entzündungsreaktion alle steril. Die Spermatogenese war nicht signifikant verändert. Im rechten (infizierten) Nebenhoden zeigte sich eine schwere Entzündung begleitet von einer signifikant erhöhten Entzündungsreaktion im rechten Hoden ($p < 0,05$). Der Erreger war im rechten Nebenhoden nachweisbar. Trotzdem waren auch hier alle Hoden steril. Die Spermatogenese auf der infizierten Seite war signifikant beeinträchtigt ($p < 0,01$).

Also beruhte eine testikuläre Entzündung und Spermatogeneseschädigung in Folge einer bakteriellen Epididymitis nicht auf einem Persistieren pathogener Erreger im Hoden. Die antibiotische Therapie mit Sparfloxacin konnte die Spermatogeneseschädigung nicht reduzieren oder verhindern. Daher ist es wahrscheinlich, dass zum Zeitpunkt des Beginns der antibiotischen Therapie eine immunologische Reaktion getriggert wurde, welche persistierte und eine schwere testikuläre Schädigung verursachte. Der exakte pathophysiologische Mechanismus sollte in der Zukunft weiter untersucht werden.

Summary

The previous study of our working group (Experimental *Escherichia coli* epididymitis in rats under the influence of Sparfloxacin, 1999) described a rat model of experimental *Escherichia coli* epididymitis which causes persistent bacteria in the epididymis. Although the inflammatory reaction was reduced with antimicrobial treatment by Sparfloxacin an epididymal damage was not avoided.

The primary target of our present study was to evaluate the grade of orchitis and the damage of spermatogenesis in correlation to antibiotic treatment.

To induce a bacterial epididymitis 18 Sprague-Dawley rats received an *E. coli* suspension injected into the right ductus deferens. 24 h after infection an oral antimicrobial treatment with Sparfloxacin for seven days was initiated in half of the animals. The other half of the animals did not receive any treatment and served as the control-group. After randomisation the rats were killed 14 days, 3 and 6 months after infection. The presence of inflammatory cells (granulocytes, macrophages, B- and T-lymphocytes) and the quality of spermatogenesis was estimated in the testes of the treated and not-treated animals applying score counts. The left testes and epididymis served as intraindividual control.

Although there was an inflammatory reaction in the left (non infected) testes and epididymis, the organs were all aseptic and the spermatogenesis was not significantly altered. A severe infection however appeared in the right (infected) epididymis accompanied by a significant increased inflammatory reaction in the testes ($p < 0.05$). Bacteria were detectable in the right epididymis, but not in the testis. The spermatogenesis was significantly deteriorated at the infected side ($p < 0.01$).

Thus a testicular inflammation and damage of spermatogenesis was found in consequence of an experimental bacterial epididymitis which is not based on the presence of bacteria in the testes. The antibiotic treatment with Sparfloxacin could not reduce or avoid the damage on the spermatogenesis.

Therefore it is likely, that before the start of therapy with Sparfloxacin an immunological reaction is triggered, which eventually persists and leads to testicular damage. The exact pathophysiological mechanisms should be investigated in the future.

7 *Literaturverzeichnis*

Abd-Allah AR, Aly HA, Moustafa AM, Abdel-Aziz AA, Hamada FM (2000)

Adverse testicular effects of some quinolone members in rats. *Pharmacol.Res.* 42:211-19

Berger RE, Alexander ER, Harnisch JP, Paulsen CA, Monda GD, Ansell J, Holmes KK (1979)

Etiology, manifestations and therapy of acute epididymitis: prospective study of 50 cases. *The Journal of Urology* 121, 750-754

Berger RE (1984)

Epididymitis. In Holmes KK et al. (eds) *Sexually transmitted diseases*, McCraw-Hill Book Co New York, pp 650-662

Bergmann M, Behre HM, Nieschlag E (1994)

Serum FSH and testicular morphology in male infertility, *Clinical Endocrinology* 40, 133-136

Bergmann M (1998A)

Spermatogenese in Krause W. / Weidner W. (Hrsg.), *Andrologie. Krankheiten der männlichen Geschlechtsorgane*, Enke Verlag, Stuttgart, 3. Auflage

Bergmann M, Kliesch S (1998B)

Hodenbiopsie in Krause, W. / Weidner, W. (Hrsg.), *Andrologie. Krankheiten der männlichen Geschlechtsorgane*, Enke Verlag, Stuttgart, 3. Auflage

Bergmann M (2007)

Hodenbiopsie, Histologie und TESE, *J Urol Urogynäkol*, 14(3): 5-12

Boeckmann W, Jakse G (1997)

Entzündungen in Hautmann / Hüland (Hrsg.), *Urologie*, Springer Verlag, Berlin et al.

Bhushan S, Schuppe HC, Tchatalbachev S, Fijak M, Weidner W, Chakraborty T, Meinhardt A (2008A)

Testicular innate immune defense against bacteria. *Mol Cell Endocrinol.*

Bhushan S, Tchatalbachev S, Klug J, Fijak M, Pineau C, Chakraborty T, Meinhardt A (2008B)
Uropathogenic Escherichia coli block MyD88-dependent and activate MyD88-independent signaling pathways in rat testicular cells. J Immunol.2008 Apr 15; 180(8):5537-47

Clinical Effectiveness Group (Association of Genitourinary Medicine and the Medical Society for the Study of Venereal Diseases)

National guideline for the management of epididymo-orchitis
Sex Transm Inf 1999, 75 (1), 51-53

Cooper TG, Yeung CH (1996)

Physiologie der Spermienreifung und Fertilisation in Nieschlag, E. / Behre, H.M (Hrsg.),
Andrologie. Grundlagen und Klinik der reproduktiven Gesundheit des Mannes, Springer
Verlag, Berlin et al.

Dahlberg B (1976)

Asymptomatic Bacteriospermia. Urology 8: 563

Dale AWS (2001)

Management of epididymo-orchitis in Genitourinary Medicine clinics in the United
Kingdom's North Thames region 2000.
International Journal of STD & AIDS 12, 342-345

Demir A, Türker P, Onol FF, Sirvanci S, Findik A, Tarcan T (2007)

Effect of experimentally induced Escherichia coli Epididymo-orchitis and ciprofloxacin
treatment on rat spermatogenesis. Int J Urol 14: 268-272

Diemer T, Weidner W, Michelmann HW, Schiefer HG, Rován E, Mayer F(1996)

Influence of E. coli on motility parameters of human spermatozoa in vitro.
Int J Androl 19: 271 (1996)

Diemer T, Ludwig M, Huwe P, Buchanan Hales D, Weidner W (2000 A)

Influence of urogenital infection on sperm function.
Current opinion in Urology 2000, 10: 39-44

- Diemer T**, Huwe P, Michelmann HW, Mayer F, Schiefer HG, Weidner W (2000 B)
Escherichia coli-induced alterations of human spermatozoa. An electron microscopy analysis. *Int J Andr*, 23: 178-186
- Diemer T**, Huwe P, Ludwig M, Schroeder-Printzen I, Michelmann HW, Schiefer HG, Weidner W (2003A)
Influence of autogenous leucocytes and Escherichia coli on sperm motility parameters in vitro. *Andrologia* 35, 100-105
- Diemer T**, Huwe P, Ludwig M, Hauck EW, Weidner W (2003B)
Urogenital infection and sperm motility. *Andrologia* 35, 283-287
- Diemer T**, Allen JA, Hales KH, Hales DB (2003C)
Reactive oxygen disrupts mitochondria in MA-10 tumor Leydig cells and inhibits steroidogenic acute regulatory (StAR) protein and steroidogenesis.
Endocrinology, 144, 2882-91
- Dohle GR** (2003)
Inflammatory-associated obstructions of the reproductive tract.
Andrologia 35, 321-324
- Dohle GR**, Colpi GM, Hargreave TB, Papp GK, Jungwirth A, Weidner W (2005)
The EAU Working Group on Male Infertility. EAU guidelines on male infertility. *European Urology* 48 (5), 703-711
- Eickhoff JH**, Frimodt-Møller N, Walter S, Frimodt-Møller C (1999)
A double-blind, randomized, controlled multicentre study to compare the efficacy of ciprofloxacin with pivampicillin as oral therapy for epididymitis in men over 40 years of age. *BJU International* 84, 827-834
- Fijak M**, Meinhardt A (2006)
The testis in immune privilege. *Immunol Rev.* 2006 Oct;213:66-81

Gonzales GF, Garcia-Hjarles MA, Gutierrez R, Guerra-Garcia R (1989)

The secretory activity of the seminal vesicles and its relationship to sperm motility: effects of infection in the male reproductive tract. *Int J Andr* 12: 286-294

Hagley M (2003)

Epididymo-orchitis and epididymitis: a review of causes and management of usual forms. *International Journal of STD & AIDS* 14, 372-378

Haidl G, Allam JP, Schuppe HC (2008)

Chronic epididymitis – impact on semen parameters and therapeutic options. *Andrologia* 40 (2), 92-96

Hartmann M (1993)

Urologische Notfallsituationen in Altwein / Rübben, Urologie, Enke Verlag, Stuttgart, 4. Auflage

Hedger MP (1999)

Testicular macrophages and inflammation. *Andrologia* 31, 308-310

Heidler H (1993)

Andrologie in Altwein / Rübben, Urologie, Enke Verlag, Stuttgart, 4. Auflage

Hess RA, Schaeffer DJ, Eroschenko VP, Keen JE (1990)

Frequency of the stages in the cycle of the seminiferous epithelium in the rat. *Biology of Reproduction* 43, 517-524

Hofmann N, Haider SG (1985)

Neue Ergebnisse morphologischer Diagnostik der Spermatogenesestörungen. *Gynäkologie* 18: 70 (1985)

Holstein AF (1983)

Histological evaluation of testicular biopsies
Fortschritte der Andrologie 8, Grosse Verlag Berlin, 108-117

Holstein AF (1993)

Männliche Geschlechtsorgane in Drenckhahn, D. / Zenker, W. (Hrsg.),
Benninghoff. Makroskopische Anatomie, Embryologie u. Histologie des Menschen, Urban
& Schwarzenberg Verlag, München et al., 15. Auflage, Band 2

Holstein AF (1999)

Spermatogenese beim Menschen: Grundlagenforschung und Klinik.
Ann Anat 181, 427-436

Horner PJ; European Branch of the International Union against Sexually Transmitted Infection
and the European Office of the World Health Organization (2001)

European guideline for the management of epididymo-orchitis and syndromic management
of acute scrotal swelling. International Journal of STD & AIDS 12 (3), 88-93

Jantos C, Krauss H, Altmannsberger M, Thiele D, Weidner W, Schiefer HG (1989)

Experimental chlamydial epididymitis. Urol Int 44: 279

Jantos C, Baumgärtner W, Durchfeld B, Schiefer HG (1992)

Experimental epididymitis due to Chlamydia trachomatis in rats. Infect immune 60: 2324

Johnsen SG (1970)

Testicular Biopsy Score Count – a method for registration of spermatogenesis in human
testes: normal values and results in 335 hypogonadal males. Hormones 1, 2-25

Jocham D(1998)

Urologische Notfallsituationen in Alken, P. / Walz, P.H. (Hrsg.), Urologie, Chapman &
Hall, Weinheim, 2. Auflage

Johannes S (1999)

Experimentelle Escherichia coli-Epididymitis bei Ratten unter Einfluss von
Sparfloxacin – Inauguraldissertation zur Erlangung des Doktorgrades beim Fachbereich
Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen, Gießen

Karcher G (Hrsg. 1982)

Erkrankungen des Hodens und seiner Anhangsgebilde in Karcher, G. (Hrsg.), Kurzlehrbuch der Urologie. Ein Leitfaden für Studium und Praxis, Schattauer Verlag, Stuttgart et al., 3. Auflage

Komarek V (2000)

Gross Anatomy in Kirinke, G.J. (Hrsg.), The Laboratory Rat – The Handbook of Experimental Animals, Academic Press, London et al.

Koppers AJ, De Iuliis GN, Finnie JM, McLaughlin EA, Aitken RJ. (2008)

Significance of mitochondrial reactive oxygen species in the generation of oxidative stress in spermatozoa.

J Clin Endocrinol Metab, 93, 3199-207.

Krause W (Hrsg. 1998)

Störungen der Spermatogenese in Krause, W. / Weidner, W. (Hrsg.), Andrologie. Krankheiten der männlichen Geschlechtsorgane, Enke Verlag, Stuttgart, 3. Auflage

Lent V (1998)

Urologie im Überblick. Entscheidungsprozesse im Überblick, Johann Ambrosius Barth Verlag, Heidelberg et al.

Leonhardt H (1985)

Histologie, Zytologie und Mikroanatomie des Menschen, Georg Thieme Verlag, Stuttgart et al., 7. Auflage

Lewis EL, Palmer JM (1980)

Office diagnosis of epididymitis, epididymo-orchitis and orchitis.

The Western Journal of Medicine 133 (3), 270-273

Liebich (1999)

Funktionelle Histologie der Haussäugetiere – Lehrbuch und Farbatlas für Studium und Praxis, Schattauer Verlag, Stuttgart und New York, 3. Auflage

Lucchetta R, Clavert A, Meyer JM, Bollack C (1983)

Acute experimental E. Coli epididymitis in the rat and its consequences of spermatogenesis.
Urol. Res. 11, 117-120

Ludewig Th, Gutte G, Zimmermann H (1995)

Histomorphometrische und histologische Untersuchungen zur morphokinetischen Wirkung von Furazolidon auf die Spermiogenese geschlechtsreifer Ratten
Anat. Histol. Embryol. 24, 7-12

Ludwig G (1998)

Andrologie in Alken, P. / Walz, P.H. (Hrsg.), Urologie, Chapman & Hall, Weinheim, 2. Auflage

Ludwig M, Kümmler C, Diemer T, Ringert RH (1994)

Ejakulatinfektionen durch sexuell übertragbare Erreger
Urologe A 33, 203-210

Ludwig M, Jantos CA, Wolf S, Bergmann M, Failing K, Schiefer HG, Weidner W (1997)

Tissue penetration of sparfloxacin in a rat model of experimental escherichia coli epididymitis, Infection 25, No. 3, 178-184

Ludwig M, Johannes S, Bergmann M, Failing K, Schiefer HG, Weidner W (2002)

Experimental Escherichia coli epididymitis in rats: a model to assess the outcome of Antibiotic treatment, BJU International (2002), 90, 933-938

Luzzi GA, O'Brien TS. (2001)

Acute epididymitis, BJU International 87, 747-755

Maeda K, Ohkura S, Tsukamura H (2000)

Physiology of Reproduction in Kirinke, G.J. (Hrsg.): The Laboratory Rat – The Handbook of Experimental Animals, Academic Press, London et al.

Makler A, Abramovici H (1978)

The correlation between sperm count and testicular biopsy using a new scoring system
Int. J. Fertil., 23 (4), 300-304

Makler A (1980)

A simplification of a new scoring system for rapid testicular biopsy evaluation
Int. J. Fertil., 25 (2), 137-140

Naber KG, Bergman B, Bishop MC, Bjerklund-Johansen TE, Botto H, Lobel B, Jinenez Cruz F, Selvaggi FP; Urinary Tract Infection (UTI) Working Group of the Health Care Office (HCO) of the European Association of Urology (EAU) (2001)

EAU guidelines for the management of urinary and male genital tract infections. Urinary Tract Infection (UTI) Working Group of the Health Care Office (HCO) of the European Association of Urology (EAU). Eur Urol. 2001 Nov;40(5):576-88.

Nieschlag E, Weinbauer GF, Cooper TG. (1992)

Reproduktion in Deetjen / Speckmann (Hrsg.), Physiologie, Urban & Schwarzenberg, München et al.

Nieschlag E, Behre HM. (1996)

Andrologie. Grundlagen und Klinik der reproduktiven Gesundheit des Mannes, Springer Verlag, Berlin

Nieschlag E (2000)

Nosologie andrologischer Krankheitsbilder. In: Andrologie – Grundlagen und Klinik der reproduktiven Gesundheit des Mannes, 2nd edn. Nieschlag E, Behre HM (eds.). Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 91-95

Nikkanen V, Grönroos M, Suominen J, Multamäki S (1979)

Silent infection in male accessory genital organs and male infertility. Andrologia 11 (3), 236-241

Nilson S, Persson PS (1968)

Changes in the parenchyma caused by acute nonspecific epididymitis. Fertility Sterility 19 (5), 748-756

Nistal M (2002)

Focal orchitis in undescended testes. Discussion of pathogenetic mechanism of tubular atrophy. Arch Pathol Lab Med 126, 64-69

Osegbe DN (1991)

Testicular function after unilateral bacterial epididymo-orchitis. *Eur Urol* 19, 204-208

Otto U (1997)

Urologische Notfallsituationen in Hautmann / Huland (Hrsg.), *Urologie*, Springer Verlag, Berlin et al.

Pantke P, Diemer T, Marconi M, Bergmann M, Steger K, Schuppe HC, Weidner W (2008)

Testicular sperm retrieval in azoospermic men. *European Urology Supplements* 7. 703-714

Pesce C, Reale A (1985)

Testis biopsy for infertility: A comparative assessment of current score methods for the evaluation of the histological specimen. *Int. J. Fertil.*, 30 (3), 7-12

Prillaman HM, Turner TT (1997)

Rescue of testicular function after acute experimental torsion.

J Urol., 157 (1), 340-5

Rübgen H (Hrsg. 1993)

Entzündungen in Altwein / Rübgen (Hrsg.), *Urologie*, Enke Verlag, Stuttgart, 4. Auflage

Schiebler, Schmidt, Zilles (1995)

Anatomie. Kapitel: Becken und Beckeneingeweide, Springer Verlag, Berlin et al., 6. Auflage

Schiefer HG, Jantos C (1999)

Rat Model of Bacterial Epididymitis in Van Oto Zak / Merle A. Sande (Hrsg.), *Handbook of Animal Models of Infection*. Academic Press, London et al.

See WA, Taylor TO, Mack LA, Tartaglione TA, Opheim KE, Berger RE (1990)

Bacterial epididymitis in the rat: a model for assessing the impact of acute inflammation on Epididymal antibiotic penetration. *The Journal of Urology* 144, 780-784

Sigg C (1979)

Klassifizierung tubulärer Hodenatrophien bei Sterilitätsabklärungen. Schweiz. Med. Wschr. 190, Nr. 35, 1284-1293

Silber SJ, Rodriguez-Rigau LJ (1981)

Quantitative analysis of testicle biopsy: Determination of partial obstruction and prediction of sperm count after surgery for obstruction. Fertility and Sterility Vol. 36, No: 4, 480-485

Skakkebaek NE, Heller CG (1973)

Quantification of human seminiferous epithelium. J. Reprod. Fert. 32, 379-389

Sökeland J (1987)

Entzündliche Erkrankungen in Sökeland, J. (Hrsg.), Urologie, Georg Thieme Verlag, Stuttgart et al., 10. Auflage

Suescun MO, Calandra RS, Lustig L (1994)

Alterations of testicular function after induced autoimmune orchitis in rats. Journal of Andrology 15, 5, 442-448

Suescun MO, Lustig L, Calandra RS, Calandra RS, Groome NP, Campo S (2001)

Correlation between inhibin secretion and damage of seminiferous tubules in a model of Experimental autoimmune orchitis. Journal of Endocrinology 170, 113-120

Torgersen HM, Rován E, Steiner M, Frick J, Adam H(1982)

BCG-induced orchitis: structural changes during the degeneration of seminiferous tubules of rats and rabbits. Urol. Res. 10, 97-104

Völter D (Hrsg. 1978)

Entzündliche Erkrankungen in Völter, D. (Hrsg.), Kompendium der Urologie, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart et al.

Weidner W, Garbe C, Weißbach L, Harbrecht J, Kleinschmidt K, Schiefer HG, Friedrich HJ(1990)

Initiale Therapie der akuten einseitigen Epididymitis mit Ofloxacin

I. Klinische und mikrobiologische Befunde

II. Andrologische Befunde

Urologe A 29, 272-280

Weidner W (1998A)

Entzündungen (Orchitis), in Krause W, Weidner W (Hrsg.), Andrologie. Krankheiten der männlichen Geschlechtsorgane, Enke Verlag, Stuttgart, 3. Auflage, 1998

Weidner W (1998B)

Krankheiten des Nebenhodens – Epididymitis, in Krause W, Weidner W (Hrsg.), Andrologie. Krankheiten der männlichen Geschlechtsorgane, Enke Verlag, Stuttgart, 3. Auflage, 1998

Weidner W, Schiefer HG (1998)

Urogenitale Infektionen in Alken, P. / Walz, P.H. (Hrsg.), Urologie, Chapman & Hall, Weinheim, 2. Auflage

Weidner W, Diedrich K, Diemer T, Kliesch S, Sperling H (2006 A)

Infertilität – Diagnostik und Therapie. Urologe, Sonderheft, 45:150-156 (2006)

Weidner W, Naber KG, Hofstetter AG, Ludwig M, Vahlensieck W, Wagenlehner FME, Schneede P (2006B)

Infektionen des Harntraktes und der männlichen Geschlechtsorgane. Urologe, Sonderheft 45: 145-149

Weinbauer GF, Gromoll J, Simoni M, Nieschlag E (1996)

Physiologie der Hodenfunktion in Nieschlag, E. / Behre, H.M. (Hrsg.), Andrologie. Grundlagen und Klinik der reproduktiven Gesundheit des Mannes Springer Verlag, Berlin et al.

Wolff H, Panhans A, Stolz W, Meurer M (1993)

Adherence of E. coli to sperm: a mannose mediated phenomenon leading to agglutination of sperm and E.coli. Fertility and Sterility, 60(1), 154-158

Wolff H (1995)

The biologic significance of white blood cells in semen. Fertility and Sterility, 63, 1143-1157

Workowski KA, Berman SM (2006)

CDC (Centers for Disease Control and Prevention) - Sexually Transmitted Disease Treatment Guidelines, MMWR Recomm Rep. 2006 Aug 4;55(RR-11):1-94.

Erratum in: MMWR Recomm Rep. 2006 Sep 15;55(36):997

World Health Organisation (WHO) (1987)

Towards more objectivity in diagnosis and management of male fertility. Results of a World Health Organization multicenter study. International Journal of Andrology, 10(Suppl 7), 1-53

Zerobin K (1987)

Physiologie der Fortpflanzung in Scheunert, A. / Trautmann, A., Lehrbuch der Veterinär-Physiologie, Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, 7. Auflage

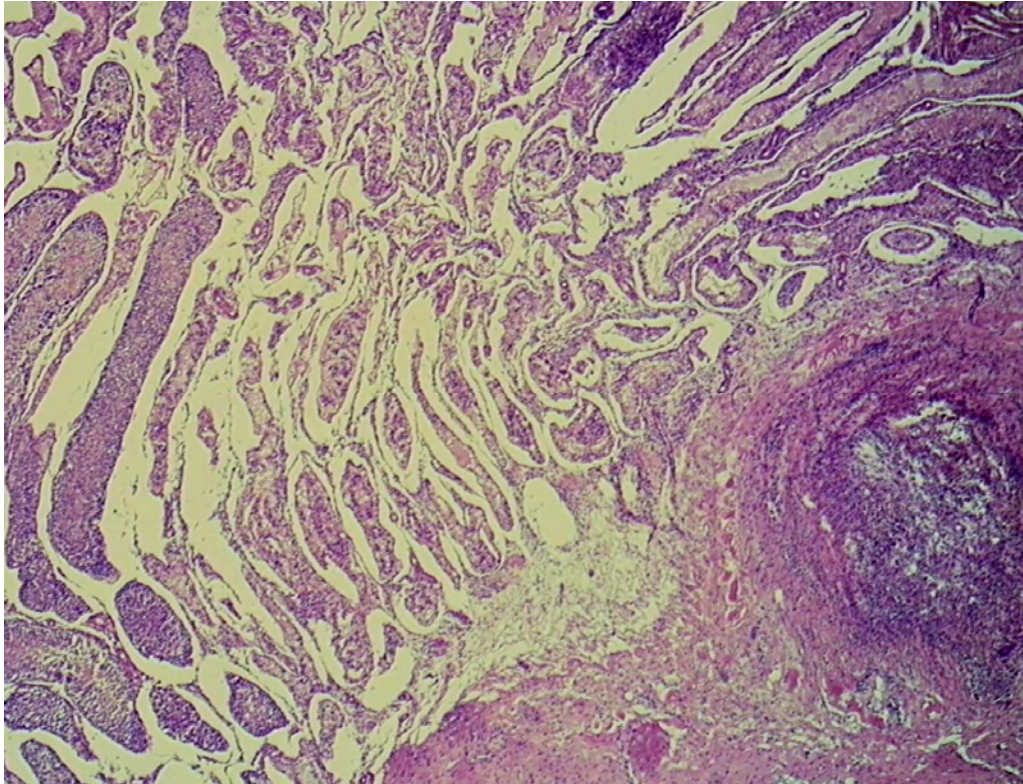


Abbildung 21: behandelter Hoden rechts mit Tötung nach 6 Monaten, sichtbarer Abszess und SCO-Tubuli

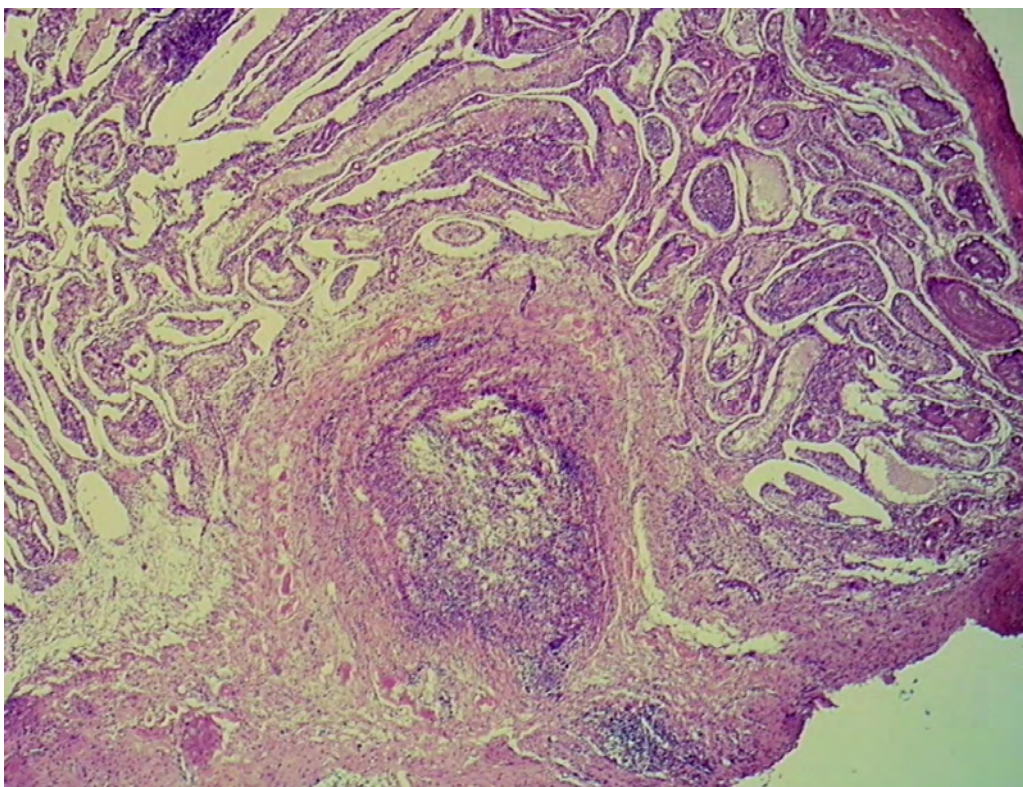


Abbildung 22: behandelter Hoden auf der infizierten Seite mit Abszess und SCO-Tubuli

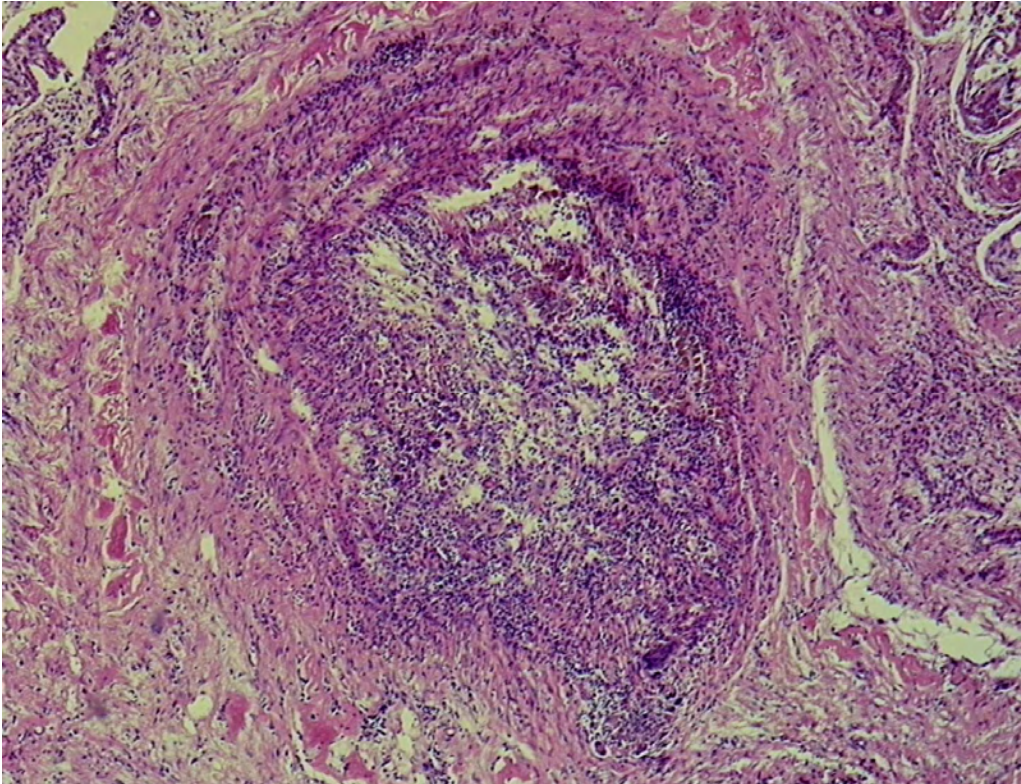


Abbildung 23: Abszess im behandelten Hoden auf der infizierten Seite

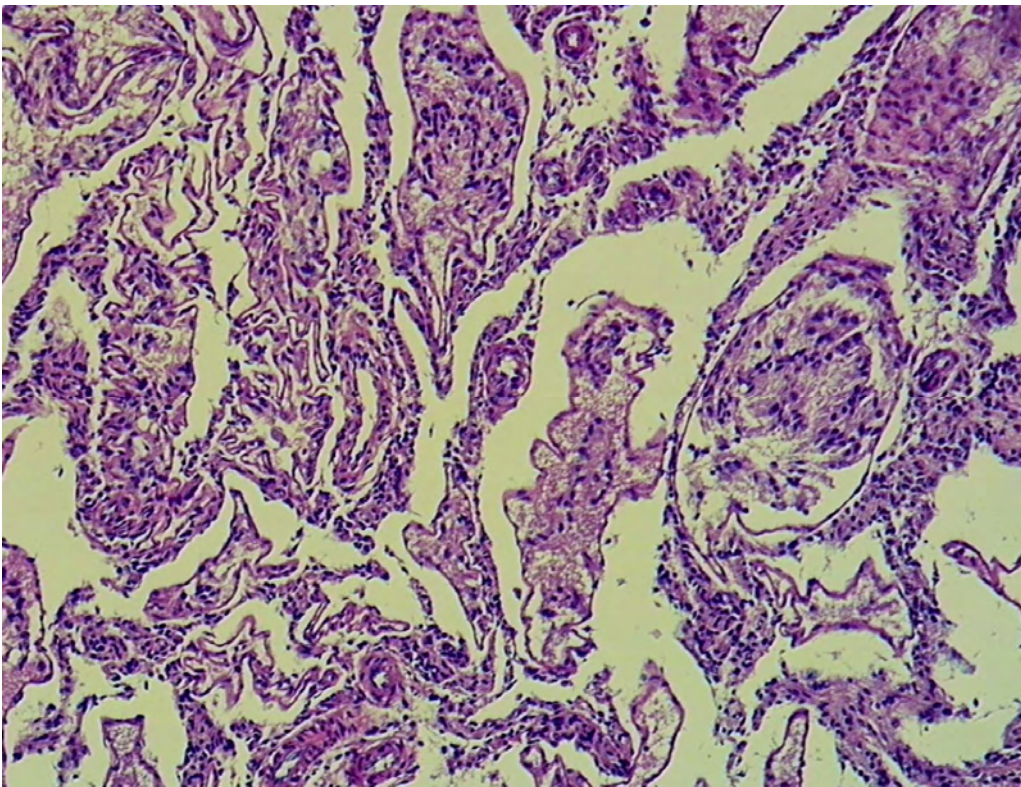


Abbildung 24: SCO-Tubuli im behandelten Hoden auf der infizierten Seite (rechts)

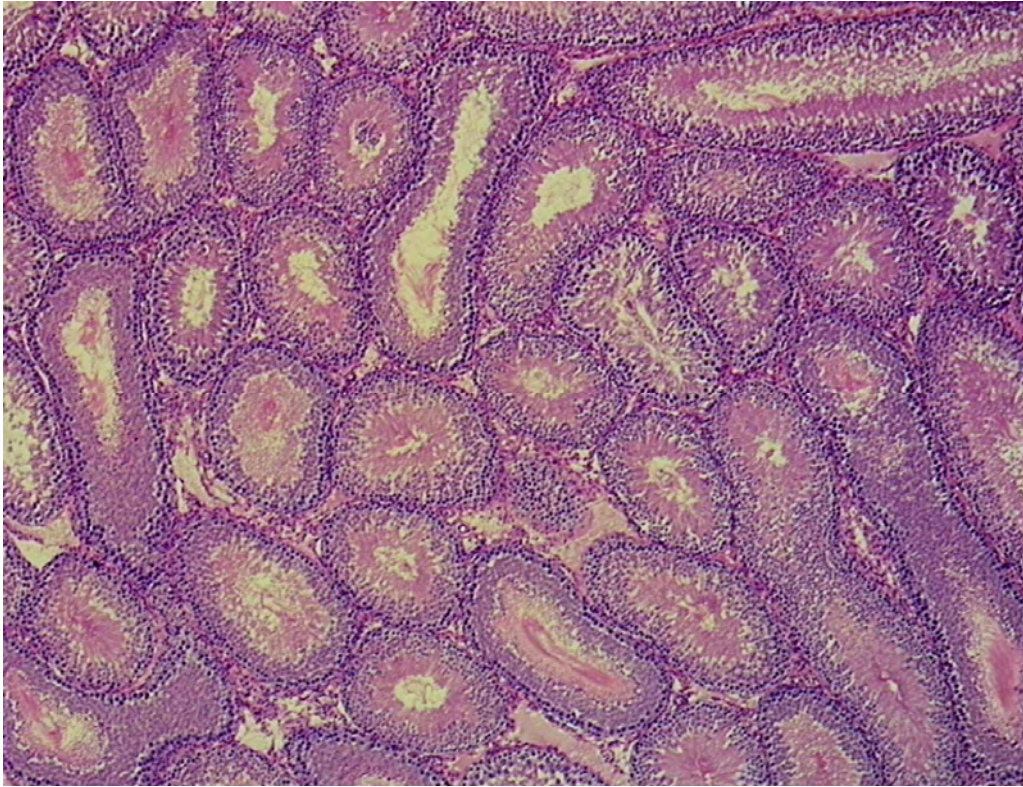


Abbildung 25: behandelter Hoden links (nicht-infizierte Seite) mit intakter Spermatogenese

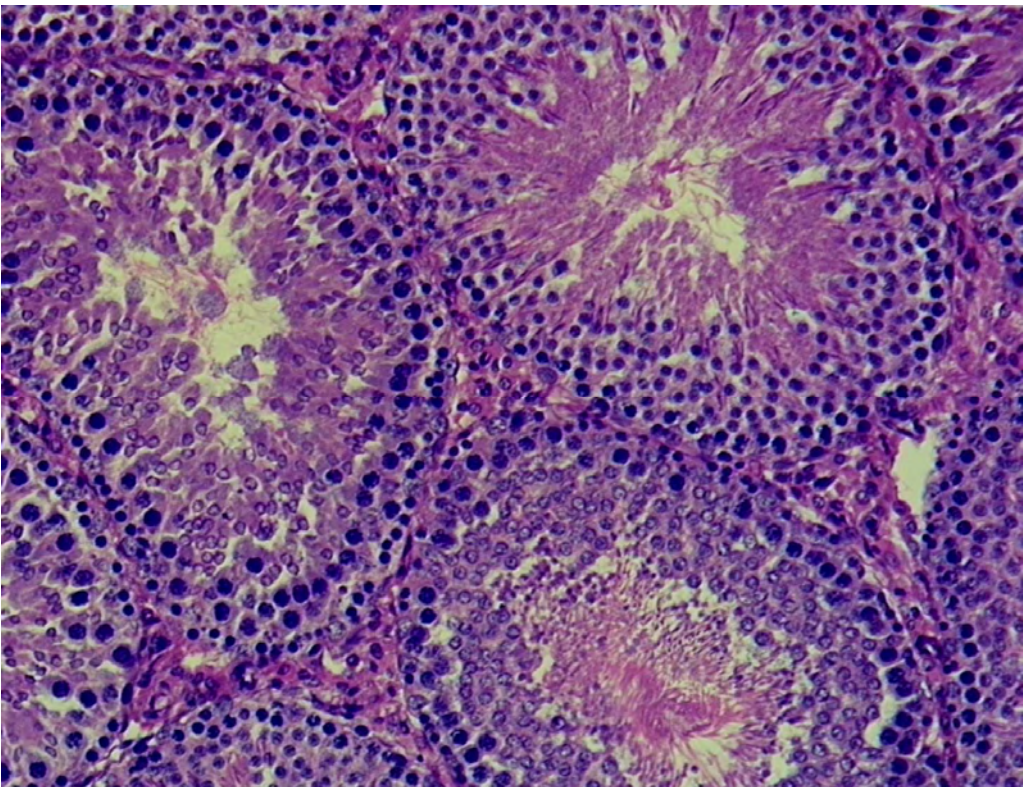


Abbildung 26: behandelter Hoden links (nicht-infizierte Seite) mit intakter Spermatogenese

alle behandelten Tiere		1R	1L	2R	2L	3R	3L	4R	4L	5R	5L	6R	6L	7R	7L	8R	8L	9R	9L	Mittelwert	Median	Standardabweichung	Min	Max	
Makrophagen	1	1	1	2	2	1	1	3	3	1	1	3	1	1	1	1	1	2	1	1	1,500	1	0,786	1	3
Granulozyten	1	1	1	1	0	1	1	3	3	1	1	3	1	1	1	1	2	4	1	1	1,500	0	1,043	0	4
T-Lymphozyten	1	0	1	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	4	0	0	0,611	1	0,979	0	4
B-Lymphozyten	1	0	1	1	0	1	1	2	2	1	1	1	1	0	0	2	1	4	1	1	1,111	2	0,963	0	4
Spermatogenese	8	8	8	8	8	2	8	0	0	6	8	6	8	9	7	3	8	1	8	8	5,889	8	3,142	0	9
alle unbehandelten Tiere		10R	10L	11R	11L	12R	12L	13R	13L	14R	14L	15R	15L	16R	16L	17R	17L	18R	18L	Mittelwert	Median	Standardabweichung	Min	Max	
Makrophagen	4	1	1	2	0	2	0	3	1	2	1	2	1	3	0	3	0	3	1	1	1,611	1,5	1,243	0	4
Granulozyten	0	1	0	0	0	1	0	1	1	3	1	1	1	3	0	3	1	4	1	1	1,222	1	1,215	0	4
T-Lymphozyten	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	0	1	1	4	1	1	0,667	0,5	0,970	0	4
B-Lymphozyten	0	0	0	0	0	1	0	0	0	3	1	2	1	3	0	3	1	4	1	1	1,111	1	1,323	0	4
Spermatogenese	8	8	9	9	9	0	8	8	9	2	9	2	9	4	8	1	6	0	9	9	6,056	8	3,489	0	9

Tabelle 12: Scorewerte für Entzündungszellen und Spermatogenese im Therapievergleich

R= infizierte Seite (rechts)

L= nicht-infizierte Seite (links)

alle rechten Hoden		2B	3B	4B	5B	6B	7B	8B	9B	10U	11U	12U	13U	14U	15U	16U	17U	18U	Mittelwert	Median	Standardabweichung	Min	Max	
1B	2	1	3	1	3	1	1	1	1	4	2	2	3	2	2	3	3	3	3	2,111	2	0,963	1	4
Makrophagen	1	1	3	1	3	1	1	1	1	4	0	1	1	3	1	3	3	4	4	1,778	1	1,309	0	4
Granulozyten	1	1	1	1	1	0	1	4	0	0	0	1	0	1	1	1	1	4	4	1,056	1	1,162	0	4
T-Lymphozyten	1	1	1	2	1	1	0	2	4	0	0	1	0	3	2	3	3	4	4	1,611	1	1,335	0	4
B-Lymphozyten	8	8	2	0	6	6	9	3	1	8	9	0	8	2	2	4	1	0	0	4,278	3,5	3,427	0	9
Spermatogenese																								
alle linken Hoden																								
1B	2B	3B	4B	5B	6B	7B	8B	9B	10U	11U	12U	13U	14U	15U	16U	17U	18U							
Makrophagen	1	2	1	3	1	1	1	2	1	1	0	1	1	1	0	0	1	1	1,000	1	0,767	0	3	
Granulozyten	1	0	1	3	1	1	1	2	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0,944	1	0,725	0	3	
T-Lymphozyten	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0,222	0	0,428	0	1	
B-Lymphozyten	0	0	1	2	1	1	0	1	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1	0,611	1	0,608	0	2	
Spermatogenese	8	8	8	0	8	8	7	8	8	8	9	8	9	9	8	6	9	9	7,667	8	2,058	0	9	

Tabelle 13: Scorewerte für Entzündungszellen und Spermatogenese im Seitenvergleich

B= behandeltes Tier

U= unbehandeltes Tier

Erklärung

“Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig, ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der “Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis” niedergelegt sind, eingehalten.”

Irem Ceylan, geb. Ikican

Danksagung

Ich danke Herrn Priv.-Doz. Dr. Wagenlehner für die Unterstützung meines Promotionsvorhabens, für die Aufstellung des Themas und seine Betreuung der Arbeit.

Herrn Prof. Dr. Martin Bergmann und seinen Mitarbeitern danke ich für die engagierte Einarbeitung und die Hilfestellung bei den Aufarbeitungen der histologischen Präparate sowie der Hilfestellung bei den Beurteilungen der Spermatogenese.

Ich danke Herrn W. Pabst für die freundliche Beratung und Hilfe bei der statistischen Auswertung der Daten.

Herrn Dr. M. Ludwig danke ich für die anfängliche Betreuung und Zusammenarbeit.

Irem Ceylan, geb. Ikican

édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
STAUFENBERGRING 15
D-35396 GIESSEN

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890
redaktion@doktorverlag.de
www.doktorverlag.de

ISBN 3-8359-5511-X



9 783835 195511 0