

Yq11 konnten bei bis zu 13% der Patienten mit Azoospermie und in einem geringeren Prozentsatz auch bei Patienten mit Oligozoospermie nachgewiesen werden.

Da es bisher kaum molekulargenetische Daten über strukturelle oder funktionelle Spermiendefekte gibt und sich die Suche nach Mutationen in Genen, die im Verlauf der Spermatogenese exprimiert werden, als ineffizient erwiesen hat, besteht die Notwendigkeit, Modelle für die Analyse genetisch bedingter Spermiendefekte zu etablieren.

Als Modell können spontane Mutationen der Maus herangezogen werden. Mehr als 50 Loci sind bekannt, die die männliche Fertilität beeinflussen. Überwiegend werden diese Mutationen autosomal rezessiv vererbt, homozygote Tiere sind meist infertil. Für das Verständnis männlicher Infertilität sind diese Mutationen aber mit Einschränkungen wenig hilfreich. Bei den Mäusen werden in der Regel auch Fehlbildungen anderer Organe gefunden. Obwohl solche Mutationen schon lange bekannt sind, sind bis auf die Mutation „quaking“ die Gene nicht analysiert.

Ein andere Möglichkeit, Spermatogenese-relevante Gene zu untersuchen, ist die Erzeugung transgener Tiere. Ca. 15% der erzeugten Tiere sind Insertionsmutanten, d.h. die Funktion eines Gens wird durch die Insertion beeinträchtigt. Die Wahrscheinlichkeit, ein Spermatogenese-relevantes Gen zu inaktivieren, ist eher gering. Die molekulargenetische Analyse der Insertion ist langwierig und schwierig.

Effektiver ist die Erzeugung transgener Tiere zur Analyse der Regulation bekannter Gene. Ein interessantes Beispiel ist eine transgene Maus mit veränderter Regulation des Protamin-Gens. Die Synthese dieser für die Chromatinkondensation wichtigen Proteine steht unter translationaler Kontrolle. In transgenen Tieren, in denen Protamin zu früh gebildet wird, führt dies zu Störungen der Chromatinkondensation und letztendlich zu Infertilität.

Das derzeit effektivste System zum

Studium Spermatogenese-relevanter Gene ist die Erzeugung von „knock-out“ Mäusen. Hierbei wird die Funktion eines Gens spezifisch ausgeschaltet. In den letzten Jahren sind mehrere Arbeiten erschienen, in denen die Funktion Testis-exprimierter Gene untersucht wurde. Dabei ergaben sich teilweise unerwartete Resultate. Ein Beispiel hierfür ist das Akrosin-Gen. Für das Akrosin wurde eine zentrale Bedeutung bei der Bindung des Spermiums an die Zona pellucida und der anschließenden Penetration angenommen. Überraschenderweise waren aber Akrosin-defiziente Mäuse fertil, ihre Spermien brauchten lediglich etwas länger für den Befruchtungsvorgang.

Ein Beispiel für die erfolgreiche Erzeugung von Mäusen mit einem strukturellen Spermiendefekt ist die Inaktivierung des mHR6B Gens. Während heterozygote Männchen und homozygote Weibchen fertil sind, sind homozygote Männchen infertil. Mehr als 70% ihrer Spermien zeigen eine aberrante Kopfmorphologie, die auf Störungen der Chromatinkondensation zurückzuführen ist. Weitere Analysen müssen zeigen, ob bei infertilen Männern Mutationen im HR6B Gen nachgewiesen werden können.

Die Erzeugung von „knock-out“ Mäusen für Keimzell-spezifische Gene stellt sicherlich das derzeit beste Verfahren dar, um unser Wissen über genetische Ursachen männlicher Infertilität zu verbessern. Hieraus gewonnene Erkenntnisse können dazu beitragen, genetische bedingte strukturelle und funktionelle Spermiendefekte beim Mann in Zukunft zu diagnostizieren.

### **Konstitutionelle Chromosomenanomalien bei mit ICSI behandelten Paaren**

Bärbel Peschka  
Institut für Humangenetik der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Wilhelmstr. 31, 53111 Bonn

Die intrazytoplasmatische Spermieninjektion (ICSI) stellt die neueste und zugleich erfolgreichste Weiterentwicklung in der reproduktiven Medizin dar. Die Anwendung von ICSI wird im Augenblick jedoch noch kontrovers diskutiert. Dazu trägt besonderes die ungeklärte Wissenslage über genetische Risiken dieser Methode bei. Von großem Interesse sind daher Daten über die Häufigkeit chromosomaler Aberrationen in der Ausgangspopulation, d.h. der Gruppe der Sterilitätspatienten, die sich einer Behandlung mit ICSI unterziehen. Durch Untersuchungen der letzten Jahre ist bekannt, daß Fertilitätsstörungen in vielen Fällen auf Chromosomenanomalien zurückgeführt werden können, d.h. daß die Häufigkeit konstitutioneller Chromosomenaberrationen bei infertilen Männern gegenüber der männlichen Durchschnittsbevölkerung erhöht ist. Durch diesen Zusammenhang wurde die Empfehlung ausgesprochen, routinemäßig vor Beginn der ICSI-Therapie Chromosomenanalysen bei den Patienten durchzuführen.

Mein Vortrag soll einen Überblick über die eigenen und die bisher veröffentlichten Befunde konstitutioneller Aberrationen bei mit ICSI behandelten Paaren verschaffen. Das ursprüngliche Ziel des Vortrages war es, die Veröffentlichungen, die sich mit diesem Thema befassen, miteinander zu vergleichen. Die mir vorliegenden Publikationen variierten aber zu stark in der Auswahl der Kollektive, in der Anzahl der Fälle sowie in der Wertung der Ergebnisse, insbesondere hinsichtlich der Gonosomenmosaik. Von daher waren die Ergebnisse nicht direkt vergleichbar. Es erschien sinnvoll, die eindeutigen Fälle aus allen Publikationen zusammenzufassen, um zu einer zahlenmäßig relevanten Stichprobe mit aussagekräftigen Ergebnissen zu kommen. Bei der Zusammenstellung wurden folgende Untersuchungen

berücksichtigt: 1985 untersuchte Bourrouillou (2) 952 Männer, 1995 stellte Plachot (5) die Analysen bei 1007 Männern vor, 1996 veröffentlichte Baschat (1) die Ergebnisse der Chromosomenanalyse bei 32 Männern. Mau (3) und Peschka (4) untersuchten die Chromosomen bei Männern und deren Partnerinnen (Mau 150 Paare, Peschka 551 Paare). Somit beziehen sich die folgenden Zahlen auf Chromosomenanalysen bei 2692 Männern und 701 Frauen. Zu gonosomalen Mosaiken wurden Fälle gezählt, bei denen die aberranten Zelllinien mindestens 6% der analysierten Zellen ausmachten und eine genügend hohe Zahl von Metaphasen ausgewertet worden war (n = 50).

Die gefundenen konstitutionellen Chromosomenanomalien umfaßten sowohl numerische als auch strukturelle Aberrationen. Als numerische Störungen fanden sich zu 3,34% Männer mit Klinefelter-Syndrom (47,XXY), XYY-Syndrom sowie Männer mit dem Karyotyp 46,XX. In der Normalbevölkerung sind diese drei numerischen Aberrationen bei 0,27% der Männer zu erwarten. Gonosomale Mosaik mit den Hauptzelllinien 47,XXY, 47,XYY und 46,XY fanden sich zu 0,48%. Bei den insgesamt 701 untersuchten Frauen wurden 0,14% Frauen mit Triplo-X-Syndrom gefunden, das entspricht in etwa der Häufigkeit in der Normalbevölkerung (0,13%). Gonosomale Mosaik fanden sich bei 0,71% der untersuchten Frauen (Hauptzelllinie: 46,XX).

Bei den strukturellen Chromosomenanomalien wurden eine Vielzahl von verschiedenen Aberrationstypen gefunden. Bei den Gonosomen fanden sich strukturelle Aberrationen in Form derivativer Y-Chromosomen in 0,37%.

Reziproke Translokationen, in wenigen Fällen mit Beteiligung eines Gonosoms, kamen zu 1,11% bei Männern und 1,0% bei Frauen vor. Das ist gegenüber der Normalbevölkerung um das 10fache erhöht. Wie man sieht, ist der Anteil der betroffenen Frauen genauso hoch wie der der Männer. Diese Tatsache ist verblüffend, da die Paare auf Grund der massiven Fertilitätsstörung des Mannes in das ICSI-

Programm aufgenommen wurden. Für die Robertsonschen Translokationen ergab sich folgendes Bild: 0,63% der Männer und 0,43% der Frauen wiesen eine solche Aberration auf, die meisten mit der Beteiligung der Chromosomen 13 und 14 (die Häufigkeit in der Normalbevölkerung beträgt 0,1%). Auch hier erstaunte der Anteil der Frauen, bei Männern war der Wert erwartungsgemäß, da der Zusammenhang zwischen der 13/14 Fusion und eingeschränkter Fertilität bekannt ist. Inversionen fanden sich zu 0,52% bei Männern und 0,23% bei Frauen (in der Normalbevölkerung werden zu 0,39% Inversionen erwartet). Markerchromosomen wurden nur bei Männern gefunden (0,11%). Dieser Wert ist gegenüber der Normalbevölkerung nicht erhöht.

Geht man davon aus, daß die Häufigkeit chromosomaler Aberrationen in der Normalbevölkerung etwa 0,8–0,9% beträgt, so ist bei dem Kollektiv der ICSI-Patienten ungefähr das 10fache zu erwarten. Bemerkenswert ist der hohe Anteil der Frauen mit Anomalien. Die Ergebnisse zeigen deutlich, daß eine zytogenetische Untersuchung beider Partner vor einer ICSI-Therapie indiziert ist.

**Literatur**

(1) Baschat et al., Hum Reprod 1996;11:330-333  
 (2) Bourrouillou et al., Hum Genet 1985;71: 66-367  
 (3) Mau et al., Hum Reprod 1997; 12: 930-937  
 (4) Peschka et al., Hum Reprod 1998; eingereicht  
 (5) Plachot, ESHRE Campus Course 1995

**Chromosomenanomalien in Spermien – Prävalenz und klinische Relevanz**

Birgit Koppers, Paul Gaßner, Hermann M. Behre\*, Eberhard Nieschlag  
 Institut für Reproduktionsmedizin und \*Frauenklinik der Westfälischen Wilhelms-Universität, Domagkstr. 11, 48149 Münster

Durch die Einführung der intracytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI) als eine Therapieform der ungewollten Kinderlosigkeit ist es heute möglich, Patienten mit schweren, andrologisch bedingten Fertilitätsstörungen zu behandeln. Im Zusammenhang mit der Mikroinjektion einzelner Spermien in das Cytoplasma der Oocyte werden die möglichen genetischen Risiken dieser Methode diskutiert.

Reduzierte Spermienkonzentrationen korrelieren mit konstitutionellen Chromosomenaberrationen. Sowohl die Frequenz gonosomaler Aberrationen (3,8%; n = 7876) als auch die Häufigkeit autosomaler Anomalien (1,3%; n = 7876) ist bei infertilen Männern verglichen mit einer unselektierten Neugeborenen-Population (gonosomale Anomalien: 0,14%; autosomale Anomalien: 0,25%; n = 94465) deutlich erhöht (1). Diese Chromosomenaberrationen führen nicht nur zu einer Beeinträchtigung der Spermienkonzentration, sondern können auch die Bildung chromosomal aberranter Spermien nach sich ziehen.

Weiter wird diskutiert, inwieweit bei Patienten mit normalem Karyotyp sowie idiopathischer Infertilität möglicherweise die Anzahl der Spermien mit numerischen oder strukturellen Chromosomenaberrationen erhöht ist. Daten der Brüsseler Arbeitsgruppe zeigen, daß die Rate gonosomaler Aneuploidien bei ICSI-Kindern im Vergleich zur Normalbevölkerung erhöht ist (2). Eine mögliche Ursache hierfür kann in der Methode der direkten Mikroinjektion gonosomal aneuploider Spermien liegen.

Mittels der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) ist es möglich, mit Hilfe spezifischer DNA-Sonden eine große Anzahl von Spermien hinsichtlich ihres