

Polymorphismen, Artefakte, ungelöste Fragen:

Die problematische Seite molekulargenetischer Diagnostik in der Reproduktionsmedizin

Jörg Gromoll, Manuela Simoni, Eberhard Nieschlag
 Institut für Reproduktionsmedizin der Westfälischen Wilhelms-Universität, Domagkstraße 11, 48129 Münster

Der distale Bereich des Y-Chromsoms enthält Gene, die für eine normale Spermatogenese essentiell sind. Eine Deletion dieser Gene führt bei den betroffenen Männern zur Azoospermie. Der diese Gene enthaltende Bereich wird als Azoospermie-Faktor bezeichnet und kann in drei Loci AZFa, AZFb, AZFc unterteilt werden (1). Als Kandidatengene konnten bisher für AZFb das RNA-Binding Motif (RBM)-Gen und für AZFc das Deleted in Azoospermia (DAZ)-Gen identifiziert werden, während für AZFa bisher keine Gene gefunden werden konnten. Beide Gene gehören zur Gruppe der RNA-bindenden Proteine und liegen als Multi-Kopien-Gene vor. RBM und DAZ sind wahrscheinlich an meiotischen und mitotischen Schritten bei der Keimzellproliferation beteiligt (2). Die Beschreibung dieser Gene und eine inzwischen genügend genaue Kartierung des Y-Chromsoms, ermöglicht mit Hilfe von STS (sequence tagged sites) einen Nachweis von Mikrodeletionen. Diese sind inzwischen vor allem im Bereich AZFb und AZFc bei azoospermen und oligozoospermen Männern als Ursache für Infertilität beschrieben worden. Die Mehrzahl der bisher detektierten Mikrodeletionen konnte dem AZFc-Locus zugeordnet werden. Das Fehlen von DAZ führt häufig zu einem vollständigen Verlust aller Keimzellen, und in den Samenkanälchen befinden sich nur noch die somatischen Sertoli-Zellen (Sertoli-cell-only Syndrom (3)). Die Inzidenz dieser Mikrodeletionen variiert jedoch mit 1-29% sehr stark (4). Diese Variabilität kann zum einen durch ethnische Unterschiede und Selektionskriterien begründet werden, zum anderen sind jedoch methodische Abweichungen im Nachweis der Mikrodeletionen in den verschiedenen andrologischen und genetischen Laboren dafür verantwortlich.

Unser Institut hat deshalb ein europaweites Programm zur Qualitätssicherung in der Diagnostik von Mikrodeletionen initiiert, an dem inzwischen 22 Labore teilnehmen. Ziel dieses Programms ist die Sicherstellung eines einheitlichen Qualitätsstandards, um so eine verlässlichere Grundlage für die männliche Fertilitätsdiagnostik zu schaffen.

Die molekularbiologische Diagnostik erlaubt gegenwärtig nur eine Analyse des Vorhandenseins des/der Gene oder des Fehlens dieser Gene; hierbei bleibt aber die Frage nach einem etwaigen Gendosis-Effekt oder nach nicht aktiven Genformen völlig unberücksichtigt. Interessant ist vor allem die Frage, ob der Verlust einzelner Genkopien bereits Einfluß auf die Spermatogenese hat, oder ob einige dieser Genkopien nicht funktionell sind. Es gibt erste experimentelle Ansätze, um diese Fragen beantworten zu können (5).

Ob Punktmutationen im Bereich von DAZ oder RBM ebenfalls eine Ursache für eine gestörte oder fehlende Spermatogenese sein können, ist derzeit nicht klar. Da die einzelnen Genkopien eine Nukleotidsequenz-Homologie von etwa 98% haben, ist derzeit eine DNA-Sequenzierung einzelner Genkopien aufgrund fehlender Unterscheidungsmöglichkeiten nicht möglich. Darüberhinaus zeigen neueste Untersuchungen, daß das DAZ-Gen in bestimmten Bereichen polymorph ist und die Kopienzahl von DAZ in der männlichen Bevölkerung variieren kann (6). Dies erschwert die Analyse des DAZ-Gens ganz erheblich. Daher ist ein dringender Bedarf an der Entwicklung von geeigneten Routine-Methoden zur genaueren Charakterisierung der beiden Gene erforderlich. Nur mit Hilfe von neuen molekularbiologischen Nachweissystemen können in Zukunft Y-chromosomale Ursachen der männlichen Infertilität detaillierter erforscht werden und damit Aufschluß darüber geben, welche Funktion die Multi-Kopien Gene DAZ und RBM für die Spermatogenese haben.

Literatur

- (1) Vogt P et al., Hum Mol Genet 1996;5:933-943
- (2) de Kretser DM et al., Reprod Med Rev 1997;6:37-53
- (3) Simoni M et al., Fertil Steril 1997;67:542-547
- (4) Simoni M et al., Mol Hum Reprod (im Druck)
- (5) Elliott DJ et al., Proc Natl Acad Sci 1997;94:3848-3853
- (6) Yen P et al., Mamm Genome 1997;8:756-759

Genetische Aspekte assistierter Reproduktion aus der Sicht des niedergelassenen Reproduktionsmediziners

Ulrich A. Knuth
 Gemeinschaftspraxis Bohnet, Knuth und Seeler, Schomburgstr. 120, 22767 Hamburg, E-Mail UAKnuth@AOL.com

Fanden sich in der Vergangenheit bei der Abklärung der ungewollten Kinderlosigkeit erhebliche Einschränkungen bei der Ejakulatqualität, konnte man den betroffenen Paaren nur noch zur Adoption oder Donorbefruchtung raten. Durch die Entwicklung der intracytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI), kombiniert mit einer IVF-Maßnahme hat sich diese Situation seit 1992 dramatisch geändert. Im Extremfall kann selbst bei seminaler Azoospermie durch die testikuläre Spermienextraktion einem betroffenen Mann und seiner Frau eine realistische Chance für ein Kind gemeinsamer Abstammung geboten werden.

Da aber der überwiegende Teil bekannter natürlicher Selektionsprozesse bei dieser Form der Fertilisierung umgangen wird, gibt es gute Gründe, gesundheitliche Schäden bei den so gezeugten Kindern zu fürchten. Dennoch hat die ICSI-Methode schnell weite Verbreitung gefunden. In Deutschland übertraf sie 1996 mit rund 16000 Behandlungszyklen erstmals die Anzahl einfacher IVF-Versuche. Der überwiegende Anteil der beteiligten Männer weist dabei sehr schlechte Ejakulatparameter auf, bei denen das Risiko einer genetischen Störung im Vergleich zu normozoospermen Männern deutlich erhöht ist. Erste Untersuchungen bei den nach Mikroinsemination geborenen Kindern und theoretische Überlegun-