

## 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-

gen lassen eine geringfügige Steigerung gonosomaler Fehlanlagen vermuten. Daher wurde pauschal gefordert, daß jedes Paar, bei dem eine Mikroinsemination erwogen wird, eine humangenetische Untersuchung und Beratung durchlaufen soll. Nach der geltenden Gebührenordnung löst dieses Vorgehen nicht unerhebliche Kosten aus (alle Kostenberechnungen bei einem Punktwert von 7,5 Pfennigen): Die spezielle humangenetische Beratung eines Paares mit Chromosomenanalyse und Bandenfärbung kostet 987 DM. Wird eine PCR-Reaktion zur weiteren Diagnostik durchgeführt, betragen die Kosten neben einer basalen Summe von 90,00 DM für die Aufbereitung je Primerpaar 37,50 DM. Die Suche nach einer Punktmutation steht gar mit 210,00 DM zu Buche, so daß leicht eine Summe von 2000 DM für die routinemäßige Untersuchung des Paares erreicht wird.

Legt man eine durchschnittliche Wahrscheinlichkeit von 7% für eine chromosomale Aberration bei infertilen Männern zugrunde (Pauer et al., 1997) und vermutet man zusätzlich eine Mikrodeletion bei weiteren 7% (Pryor et al., 1997), so kann man mit Kosten von rund 13.000 DM pro Paar mit erfaßter Störung rechnen.

Nimmt man die Basis der ICSI-Zyklen 1996 und geht man von einer Schwangerschaftsrate um 15% aus, kommt man auf eine Wiederholungsfrequenz von 3,2 mit einer Ausgangszahl von 5000 neuen Paaren pro Jahr. Die gesamten Screeningkosten betragen dann 10 Mill. DM jährlich. Bei den erwarteten 2400 Konzeptionen ergeben sich pro Konzeption rund 4.200 DM Kosten. Die Wahrscheinlichkeit, daß die Ergebnisse der lymphocytären genetischen Befunde der Eltern aber wirklich bei dem Konzeptus gefunden werden, ist aber eher niedrig. Stützt man sich auf eine ererbte Rate von 1,2% genetischer Störungen bei der pränatalen Diagnostik von 904 konsekutiv entstandenen ICSI-Schwangerschaften (Wisanto et al., 1996), betragen die Kosten der Präkonzeptionsdiagnostik pro erfaßter Störung rund 340.000 DM! Da der Vertragsarzt nach § 12 SGB V zweckmäßig und wirtschaftlich therapieren und diagnostizieren muß, kann eine routinemäßige

genetische Diagnostik im geforderten Umfang nicht vor jeder ICSI-Therapie durchgeführt werden.

Risikofälle müssen vielmehr vor einer Indikationsstellung durch gute klinische Untersuchungen beider Partner, durch Ejakulatuntersuchungen nach WHO-Regeln und durch eine eingehende Familienanamnese zunächst selektiert werden. Alle übrigen Paare sind eingehend über ein gewisses genetisches Restrisiko aufzuklären und auf die Möglichkeiten einer Pränataldiagnostik hinzuweisen, die nach persönlicher Sicht des Autors einer generellen Präkonzeptionsdiagnostik vorzuziehen ist. Die Reduktion wichtiger Untersuchungen und involvierter Einzelschicksale auf wirtschaftliche Überlegungen darf dabei nicht zynisch erscheinen, wird aber in einer Zeit begrenzter Mittel zunehmend in medizinische Entscheidungen einfließen müssen. Das ethische Dilemma für den beratenden Arzt mag dabei tragische Züge im klassischen Sinne erreichen.

#### Literatur

- Pauer HU et al, Hum Reprod 1997;12:1909-1912  
 Pryor JL et al., N Engl J Med 1997;336:534-539  
 Wisanto A et al., Hum Reprod 1996;11 (Suppl 4):121-129

### Humangenetische Beratung vor assistierter Reproduktion

Ulrike Mau  
 Abteilung Klinische Genetik, Wilhelmstr. 27, 72074 Tübingen

1995 hat die Arbeitsgemeinschaft für Gynäkologie und Fortpflanzungsmedizin der Dt. Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe Empfehlungen zu Voraussetzungen, Indikationsstellung, Dokumentation und Kontrolle der intrazytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI) formuliert. So soll z.B. die Aufklärung eines betroffenen Ehepaares „alle relevanten medizinischen, juristischen und sozialen Gesichtspunkte berücksichtigen“. In jedem Fall erforderlich sei eine genetische Beratung des Paares und ggfs. eine entsprechende Untersuchung.

Von vielen Ehepaaren wird diese empfohlene genetische Beratung als weitere Hürde auf dem Weg zur Verwirklichung ihres Kinderwunsches angesehen („Warum genetische Beratung? In unserer Familie kommen doch gar keine Erbkrankheiten vor“). Häufig haben die betroffenen Ehepaare eine jahrelange Odyssee hinter sich mit endlosen Untersuchungen, etlichen Therapieversuchen, und immer wieder Hoffnungen, die Monat für Monat enttäuscht wurden. Die psychosozialen Auswirkungen sind oft erheblich (großer Leidensdruck, vermindertes Selbstwertgefühl, Gefühl des Ausgeliefertseins, Zurückgezogenheit, depressive Verstimmungen usw.).

Bei den betroffenen Ehepaaren werden überdurchschnittlich häufig auffällige, für das Wunschkind u.U. bedeutsame Befunde erhoben: Chromosomenaberrationen (bei Männern und Frauen!), Deletionen im AZF, Mutationen im CFTR-Gen. Über Ursachen und evtl. generationsübergreifende Bedeutung der bei etlichen Paaren vorliegenden „idiopathischen Sterilität“ können derzeit keine Aussagen gemacht werden. Über diese Sachverhalte sollten die Paare adäquat aufgeklärt werden, damit dies in den Entscheidungsprozeß für oder gegen ICSI einfließen kann.

Eine genetische Beratung erfolgt in einigen Zentren nur bei auffälligen