

Empfehlung zur genetischen Diagnostik bei Kinderwunschpaaren

Ludwig Michael, Gromoll Jörg, Hehr Ute, Wieacker Peter

Stellungnahme der Arbeitsgemeinschaft Reproduktionsgenetik der Deutschen Gesellschaft für Reproduktionsmedizin

Nachdruck mit freundlicher Genehmigung der Krause & Pachernegg GmbH, Gablitz, Austria

Zit. aus J Reproduktionsmed Endokrinol 2004; 1 (3): 190-193

Männliche Fertilitätsstörungen können genetische Ursachen haben, die für Nachkommen bedeutsam sein können. Man kann unterscheiden zwischen der Subfertilität – also einer Einschränkung der Zeugungsfähigkeit – sowie der Sterilität bzw. Infertilität – also dem Unvermögen, eine Schwangerschaft herbeizuführen. Im Folgenden werden – wie in der Literatur üblich – auch in diesen Empfehlungen die Begriffe „Sterilität“ und „Infertilität“ synonym verwendet.

Diese Empfehlungen beschäftigen sich explizit nicht mit Paaren, die aufgrund eines habituellen Abortgeschehens vorstellig werden. Ferner gehen die Autoren dieser Empfehlungen davon aus, dass prinzipiell die Form der Kinderwunschbehandlung hinsichtlich der abzuklärenden genetischen Auffälligkeiten irrelevant ist.

Schätzungsweise bei ca. 30 % aller infertilen Männer sind genetische Ursachen anzunehmen, wobei derzeit nur ein Teil ätiologisch geklärt werden kann. Im Vordergrund stehen dabei Chromosomenanomalien, ferner Mikrodeletionen in den AZF-Loci des Y-Chromosoms sowie Mutationen im Gen für die zystische Fibrose.

In diesen Empfehlungen wird eingegangen auf:

1. Chromosomenanomalien
2. Mikrodeletionen des Y-Chromosoms in der Region Yq11.21-23 (Azoospermiefaktoren, AZF)
3. Mutationen im Gen für die zystische Fibrose (CFTR)

4. Syndromale Ursachen der Infertilität

Chromosomenanalyse

Wissenschaftlicher Hintergrund

Bereits seit langem ist bekannt, dass eine männliche Subfertilität oder Sterilität mit Chromosomenanomalien assoziiert sein kann. Die Frequenz liegt ungefähr um den Faktor 10 bis 15 höher im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung (5;16;25). Dieses Risiko gilt insbesondere für Männer mit Azoospermie sowie mit höhergradiger Oligozoospermie. Die Grenze hinsichtlich der Oligozoospermie, bei der noch mit einer Erhöhung der Häufigkeit für Chromosomenstörungen zu rechnen ist, ist schwer zu ziehen. So fanden Autoren in einer Arbeit bei Männern mit weniger als 1 Millionen motiler Spermien/ml eine Prävalenz von 9/113 (7,96 %) (6). Ältere Arbeiten beschreiben bei einer Grenze von < 20 Millionen Spermien/ml eine Prävalenz von 1.7 bis 3.5 %, bei < 10 Millionen Spermien/ml von ca. 6.5 % (Tabelle 1).

Somit ist auch bei einer Oligozoospermie jedweder Ausprägung mit einer erhöhten Rate an Chromosomenaberrationen zu rechnen. In verschiedenen Untersuchungen konnte ferner gezeigt werden, dass auch bei Frauen, die aufgrund einer männlich bedingten Sterilität in die Kinderwunschsprechstunde kommen, die Wahrscheinlichkeit einer Chromosomenanomalie erhöht ist (Tabelle 2). Die Wahrscheinlichkeit einer Chromosomenaberration beträgt dabei je nach Studie zwischen 3,28 und

9,79 % (8;14;20;27). Dieses Phänomen ist bisher nicht endgültig geklärt. Es verhält sich möglicherweise so, dass die Chromosomenanomalie der Frau zu einer leicht herabgesetzten Fertilität führt, die wiederum in Kombination mit dem auffälligen Spermio-grammbefund in einer Sterilität resultiert, die das Paar dann in die Kinderwunschsprechstunde führt. Wissenschaftlich belegbare Daten für diese Theorie liegen nicht vor. Unabhängig von der zugrundeliegenden Ursache ist es aber definitiv so, dass mit einer erhöhten Rate an chromosomalen Auffälligkeiten bei Frauen im Rahmen der ICSI zu rechnen ist.

Empfehlungen vor dem wissenschaftlichen Hintergrund

Es wird aufgrund der oben genannten Ausführungen bei Paaren, die aufgrund einer männlich bedingten Sterilität vorstellig werden, empfohlen, eine Chromosomenanalyse bei **beiden** Partnern durchzuführen.

Vor der Diagnostik sollte eine genetische Beratung erfolgen, bei der die Bedeutung der Diagnostik und die Konsequenz einer Chromosomenstörung erläutert werden sollten.

Konsequenzen eines positiven Befundes für die genetische Beratung

Im Falle eines auffälligen Befundes bei Mann oder Frau ist eine erneute genetische Beratung angezeigt, bei der die im vorliegenden Fall bestehende Wahrscheinlichkeit für Chromosomenstörungen bei Nachkommen abgeschätzt werden sollte. Auf

Tab 1 Prävalenz von Chromosomenanomalien bei Männern mit eingeschränktem Spermogramm.
Daten nach van Assche et al. (1996) (25).

Literatur	n	Spermienzahl (in Mio/ml)	Auffälligkeiten
Hendry et al. (1976)	108	< 20	2 (1.9%)
Micic et al. (1984) (15)	464	< 20	8 (1.7%)
Retief et al. (1984) (19)	390	< 10	24 (6.2%)
Bourrouillou et al. (1985) (2)	569	< 10	39 (6.9%)
Matsuda et al. (1989) (12)	170	< 20	6 (3.5%)

die eventuelle Bedeutung des erhobenen Befundes für Verwandte der betroffenen Person sollte hingewiesen werden. Die Möglichkeiten der Pränataldiagnostik von Chromosomenaberrationen sollten erläutert werden. Schließlich ist auf die eventuell erhöhte Wahrscheinlichkeit von Fehlgeburten hinzuweisen.

Mikrodeletionen des Y-Chromosoms

Wissenschaftlicher Hintergrund

Die Tatsache, dass Deletionen des Y-Chromosoms eine Sterilität verursachen können, ist nicht neu (23). Mitte der 1990er Jahre wurde dann jedoch gezeigt, dass durchaus auch Mikrodeletionen, die nur durch eine Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) erfassbar sind, ein hochgradiges OAT-Syndrom oder eine Azoospermie zur Folge haben können (18).

Zwischenzeitlich sind zahlreiche Arbeiten erschienen, die die Prävalenz bestimmter Deletionen in den sogenannten Azoospermiefaktoren (AZF) ermitteln konnten. Deletionen in den Azoospermiefaktoren kommen bei Männern mit nicht-obstruktiver Azoospermie in 15 bis 20 %, bei Männern mit schwerer Oligozoospermie zwischen 7 und 10 % vor (21). Bei nicht-selektierten Patienten mit Infertilität beträgt die Inzidenz von AZF-Deletionen 0,6 bis 1 % (16).

Die Region Yq11.21-23 kann in drei Regionen (AZFa, AZFb und AZFc) eingeteilt werden. Von den Fällen mit Mikrodeletionen betreffen ca. 60 % AZFc, 16 % AZFb, 5 % AZFa, wäh-

rend bei den restlichen Patienten mehrere Regionen deletiert sind. Diese Prävalenzen sind in Tabelle 3 und Tabelle 4 zusammengefasst.

Am häufigsten sind die AZFc-Deletionen, die immer zu einer Subfertilität führen. Prognostisch relevant scheinen vor allem Deletionen im Bereich des AZFa zu sein. Eine solche Deletion ist häufiger mit einem kompletten Fehlen jeglicher Spermatogeneseaktivität vergesellschaftet, so dass eine testikuläre Spermienextraktion (TESE) eher erfolglos bleiben wird (3).

In der Beratung sollte darauf hingewiesen werden, dass ein Sohn eines Mannes mit einer AZF-Deletion mit hoher Wahrscheinlichkeit ebenso wie sein Vater eine Infertilität oder Subfertilität im weiteren Leben entwickeln wird. Dabei ist allerdings eine mögliche variable Expressivität zu berücksichtigen (11).

Empfehlungen vor dem wissenschaftlichen Hintergrund

Eine Abklärung der AZF-Mikrodeletionen im Falle einer Azoospermie sowie einer ausgeprägten Oligozoospermie (< 5 Millionen Spermien/ml) ist eine sinnvolle Ergänzung der genetischen Diagnostik.

Ferner sei an dieser Stelle auf die Empfehlungen der European Academy of Andrology verwiesen (<http://www.uni-leipzig.de/~eaa/html/guidelines.html>).

Konsequenzen eines positiven Befundes für die genetische Beratung

Wird eine Mikrodeletion nachgewiesen, so wird ein Sohn eine ebensolche Mikrodeletion mit den entsprechenden Folgen (Subfertilität, Sterilität) erben. Findet sich keine Mikrodeletion, so ist eine genetische Ursache der männlichen Subfertilität **nicht** ausgeschlossen. Andere Mutationen der Azoospermiefaktoren, Mosaik sowie andere genetische Ursachen wie z. B. Chromosomenaberrationen oder andere monogene Defekte sind möglich. Bei einer AZFa-Mikrodeletion wird man nahezu ausschließlich eine Azoospermie finden. Bei einer AZFb-Mikrodeletion ist die Chance für das Auffinden von Spermien sehr gering. Im Falle einer AZFc-Mikrodeletion schließlich findet sich ein sehr variabler Phänotyp von einer Azoospermie bis zu einer Oligozoospermie. Es kann allein aufgrund einer bestimmten Mikrodeletion und einer Hypergonadotropinämie nicht von einer TESE abgeraten werden.

Mutationen im CFTR-Gen

Wissenschaftlicher Hintergrund

Die zystische Fibrose (CF) oder Mukoviszidose ist eine autosomal-rezessiv erbliche Erkrankung, die durch Mutationen im CFTR-Gen bedingt ist. Die Überträgerwahrscheinlichkeit in der deutschen Allgemeinbevölkerung beträgt 1:20 bis 25. Mehr als 95 % aller männlichen CF-Patienten weisen eine Infertilität auf, die auf Fehlbildungen der Abkömmlinge der Wolffschen Gänge zurückzuführen ist. Dabei tritt meistens eine kongenitale bilaterale

Tab 2 Daten zu den zu erwartenden Chromosomenanomalien bei Partnerinnen im Falle einer geplanten ICSI-Therapie

Literatur	Veränderungen		
	Mann	Frau	
		autosomal strukturell	Numerisch (incl. Gonosomen)
Meschede et al., (1998) (14)	9/432 (2.10%)	5/436 (1.15%)	19/436 (4.36%)
Scholtes et al. (1998) (20)	50/1116 (4.48%)	27/1164 (2.32%)	87/1164 (7.47%)
Van der Ven et al. (1998) (27)	10/305 (3.28%)	9/305 (2.95%)	1/305 (0.33%)
Gekas et al. (2001) (8)	134/2196 (6.10%)	21/1012 (2.08%)	28/1012 (2.77%)

Aplasie der Vasa deferentia (CBAVD) auf.

Bei 1 bis 2 % aller infertilen Männer liegt eine isolierte CBAVD vor. Bei CBAVD-Patienten findet man in ca. 73,5 % der Fälle zwei mutierte CFTR-Allele und in ca. 10,4 % der Fälle ein mutiertes Allel (22). Dabei unterscheidet sich das Mutationsspektrum teilweise von demjenigen von CF-Patienten. Die häufigsten Mutationen bei CBAVD sind $\Delta F508$, das 5T-Allel und R117H. Kürzlich konnte gezeigt werden, dass die Zahl der TG-Repeats in der Nachbarschaft eines 5T-Allels Einfluss auf die Ausprägung des Phänotyps haben (9). Auch bei Patienten mit kongenitaler unilateraler Aplasie des Vas deferens (CUAVD) sind CFTR-Mutationen beschrieben worden (22). Bei 30 % dieser Patienten besteht eine ausgeprägte Oligozoospermie. Bei ca. 20 % der Patienten mit CBAVD ohne CFTR-Mutationen bestehen Fehlbildungen der Nieren. Diese klinische Entität kann ebenfalls vererbt werden.

Die Ergebnisse von Untersuchungen zur Häufigkeit von CFTR-Mutationen bei Patienten mit Oligozoospermie ohne klinischen Hinweis auf CAVD sind nicht einheitlich. Van der Ven et al. (1996) haben bei 14 von 80 Patienten mit verminderter Spermienqualität (17,5 %) mindestens eine CFTR-Mutation nachgewiesen (26). Jakubiczka et al. (1999) konnten bei 13 von 197 Männern (6,6 %) mit idiopathischer Infertilität eine Heterozygotie für CFTR-Mutationen feststellen, wobei das 5T-Allel dabei nicht berücksich-

tigt wurde (10). Cruger et al. (2003) fanden bei Patienten mit < 1 Mio Spermien/ml eine leicht erhöhte Heterozygotierate (4). Dagegen wurde z.B. in den Studien von Boucher et al. (1999), Tuerlings et al. (1998) und Ravnik-Glavac et al. (2001) keine erhöhte Heterozygotierate für CFTR-Mutationen bei nicht-obstruktiver Azoospermie oder OAT-Syndrom festgestellt (1;17;24).

Empfehlungen vor dem wissenschaftlichen Hintergrund

Bei jedem infertilen Mann mit Azoospermie oder schwerer Oligozoospermie (< 1 Mio Spermien/ml) sollte zunächst klinisch gezielt nach einer Aplasie der Vasa deferentia gesucht werden. Ferner ist eine Nierensonographie empfehlenswert.

Im Falle einer CBAVD oder CUAVD sollte eine detaillierte molekulargenetische Analyse des CFTR-Gens erfolgen. Im Falle einer ausgeprägten Oligozoospermie erscheint eine leicht erhöhte Heterozygotierate für CFTR-Mutationen derzeit nicht ausgeschlossen.

Konsequenzen eines positiven Befundes für die genetische Beratung

Wenn beim Mann eine CFTR-Mutation festgestellt wird, sollte der Partnerin im Rahmen einer genetischen Beratung eine molekulargenetische Analyse des CFTR-Gens angeboten werden. Im Falle eines 5T-Allels ist für die Beratung die Bestimmung der TG-Repeats sinnvoll (9).

Abklärung von syndromalen Ursachen der Sterilität

Nach einer Studie von Meschede et al. (13) lag die Prävalenz einer übergeordneten genetischen Erkrankung bei infertilen Männern in der Größenordnung von 1,9 % (vs. 0,9 % in der Kontrollgruppe). Wenn auch syndromale Ursachen der Sterilität eher selten anzutreffen sind, sollten bei jedem Paar vor der Inanspruchnahme assistierter reproduktionsmedizinischer Maßnahmen eine sorgfältige Familienanamnese und gegebenenfalls klinische Untersuchungen erfolgen, um eine eventuelle übergeordnete Erkrankung zu diagnostizieren. Mehr als 70 solcher Syndrome sind bekannt, die autosomal-dominant, autosomal-rezessiv oder X-chromosomal vererbt werden können. In einem solchen Fall können weiterführende genetische Tests indiziert sein.

Literatur

1. Boucher D, Creveaux I, Grizard G, Jimenez C, Hermabessiere J, Dastugue B. Screening for cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene mutations in men included in an intracytoplasmic sperm injection programme. *Mol Hum Reprod* 1999; 5: 587-93.
2. Bourrouillou G, Dastugue N, Colombies P. Chromosome studies in 952 infertile males with a sperm count below 10 million/ml. *Hum Genet* 1985; 71: 366-7.
3. Brandell RA, Mielnik A, Liotta D et al. AZFb deletions predict the absence of spermatozoa with testicular sperm extraction: preliminary report of a prognostic genetic test. *Hum Reprod* 1998; 13: 2812-5.
4. Cruger DG, Agerholm I, Byriel L, Fedder J, Bruun-Petersen G. Genetic analysis of males from intracytoplasmic sperm injection couples.

Tab 3 Prävalenz von AZF-Deletionen in einem Kollektiv von infertilen Männern (7).

	n	%
AZFa	13/265	4.9
AZFb	42/265	15.8
AZFc	158/265	59.6
AZFa + b	4/265	1.5
AZF b + c	22/265	8.3
AZF a + b + c	10/265	3.8
Außerhalb von AZF	16 / 265	6.0

Tab 4 Prävalenz von AZF Deletionen nach den publizierten Daten 1992 – 2000 (7).

Population	Prävalenz
gesamt (401/4868)	8,2%
„infertile“ Patienten (34/450)	7,5%
Oligozoospermie (4/138)	2,9%
idiopathische Oligozoospermie (18/155)	11,6%
idiopathisch < 5 Mio/ml (5/35)	14,3%
idiopathisch > 5 Mio/ml (3/416)	0,7%
gesamt Oligozoospermie (30/744)	4,0%
Azoospermie (20/275)	7,3%
non-obstruktive Azoospermie (81/769)	10,5%
idiopathische Azoospermie (36/199)	18,0%
idiopathische Azoospermie < 5 Mio/ml (14/213)	6,6%
gesamt Azoospermie (137/1243)	11,0%
gesamt Azoospermie < 5 Mio/ml (156/1491)	10,5%
idiopathische schwere Hypospermatogenese (21/85)	24,7%
idiopathisches Sertoli-Zell-Only-Syndrom (19/55)	34,5%
ICSI-Patienten (32/850)	3,8%
fertile Männer (12/2663)	0,4%
Verwandte von Männern mit AZF-Deletion (7/136)	5,1%

Clin Genet 2003; 64: 198-203.

5. De Braekeleer M, Dao T-N. Cytogenetic studies in male infertility: a review. Hum Reprod 1991; 6: 245-50.

6. Dohle GR, Halley DJ, van Hemel JO et al. Genetic risk factors in infertile men with severe oligozoospermia and azoospermia. Hum Reprod 2002; 17: 13-6.

7. Foresta C, Moro E, Ferlin A. Y chromosome microdeletions and alterations of spermatogenesis. Endocr Rev 2001; 22: 226-39.

8. Gekas J, Thepot F, Turleau C et al. Chromosomal factors of infertility in candidate couples for ICSI: an equal risk of constitutional aberrations in women and men. Hum Reprod 2001; 16: 82-90.

9. Groman JD, Hefferon TW, Casals T et al. Variation in a repeat sequence determines whether a common variant of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene is pathogenic or benign. Am J Hum Genet 2004; 74: 176-9.

10. Jakubiczka S, Bettecken T, Stumm M et al. Frequency of CFTR gene mutations in males participating in an ICSI programme. Hum Reprod 1999; 14: 1833-4.

11. Kuhnert B, Gromoll J, Kostova E et al. Case report: natural transmission of an AZFc Y-chromosomal microdeletion from father to his sons. Hum Reprod 2004; 19: 886-8.

12. Matsuda T, Nonomura M, Okada K, Hayashi K, Yoshida O. Cytogenetic survey of subfertile males in Japan. Urol.Int 1989; 44: 194-7.

13. Meschede D, Lemcke B, Behre HM, De Geyter C, Nieschlag E, Horst J. Non-reproductive heritable disorders in infertile couples and their first degree relatives. Hum Reprod 2000; 15: 1609-12.

14. Meschede D, Lemcke B, Exeler JR et al. Chromosome abnormalities in 447 couples undergoing intracytoplasmic sperm injection—prevalence, types, sex distribution and reproductive relevance. Hum Reprod 1998; 13: 576-82.

15. Micic M, Micic S, Diklic V. Chromosomal constitution of infertile men. Clin Genet 1984; 25: 33-6.

16. Pauer H-U, Engel W. Die Bedeutung chromosomaler Anomalien bei der männlichen Fertilität. Gynäkologe 2000; 33: 88-93.

17. Ravnik-Glavac M, Svetina N, Zorn B, Peterlin B, Glavac D. Involvement of CFTR gene alterations in obstructive and nonobstructive infertility in men. Genet Test. 2001; 5: 243-7.

18. Reijo R, Lee TY, Salo P et al. Diverse spermatogenic defects in humans caused by Y chromosome deletions encompassing a novel RNA-binding protein gene. Nature Genetics 1995; 10: 383-93.

19. Retief AE, Van Zyl JA, Menkveld R, Fox MF, Kotze GM, Brusnick J. Chromosome studies in 496 infertile males with a sperm count below 10 million/ml. Hum Genet 1984; 66: 162-4.

20. Scholtes MC, Behrend C, Dietzel-Dahmen J et al. Chromosomal aberrations in couples undergoing intracytoplasmic sperm injection: influence on implantation and ongoing pregnancy rates. Fertil Steril 1998; 70: 933-7.

21. Simoni M, Gromoll J, Dworniczak B et al. Screening for deletions of the Y chromosome involving the DAZ (Deleted in AZoospermia) gene in azoospermia and severe oligozoospermia. Fertil Steril 1997; 67: 542-7.

22. Stuhmann M, Dork T. CFTR gene mutations and male infertility. Andrologia 2000; 32: 71-83.

23. Tiepolo L, Zuffardi O. Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human Y chromosome long arm. Hum Genet 1976; 34: 119-24.

24. Tuerlings JH, Mol B, Kremer JA et al. Mutation frequency of cystic fibrosis transmembrane regulator is not increased in oligozoospermic male candidates for intracytoplasmic sperm injection. Fertil Steril 1998; 69: 899-903.

25. Van Assche E, Bonduelle M, Tournaye H et al. Cytogenetics in infertile men. Hum Reprod 1996; 11 (Suppl 4): 1-24.

26. van der Ven K, Messer L, Van der Ven H, Jeyendran RS, Ober C. Cystic fibrosis mutation screening in healthy men with reduced sperm quality. Hum Reprod 1996; 11: 513-7.

27. van der Ven K, Peschka B, Montag M, Lange R, Schwantz G, van der Ven HH. Increased

frequency of congenital chromosomal aberrations in female partners of couples undergoing intracytoplasmic sperm injection. Hum Reprod 1998; 13: 48-54.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. med. Peter Wieacker
 Otto-von-Guericke-Universität
 Institut für Humangenetik
 Leipziger Str. 44
 D-39120 Magdeburg
 peter.wieacker@medizin.uni-magdeburg.de