

Genetische Aspekte bei Spermatogenesestörungen

Bei 10–15% der Paare bleibt der Kinderwunsch auf natürlichem Weg unerfüllt und in etwa der Hälfte der Fälle zeigt sich eine (Mit-)Ursache aufseiten des Mannes. In der Regel findet sich bei einem ansonsten gesunden Mann eine eingeschränkte Spermienzahl/-konzentration (Oligozoospermie), häufig kombiniert mit weiteren reduzierten Spermienqualitätsparametern (z. B. eingeschränkte Spermienmotilität und -morphologie, dann Oligoasthenoteratozoospermie, „OAT-Syndrom“); selten handelt es sich um spezifische Spermiendefekte (Globozoospermie, Zilienstrukturdefekte). Als klinisch schwerwiegendste Form der männlichen Infertilität kann die Azoospermie, also das völlige Fehlen von Spermien im Ejakulat, angesehen werden.

Aus Familienuntersuchungen wurde deutlich, dass die männliche Infertilität eine erbliche Komponente aufweist: Unter den Verwandten eines infertilen Mannes gibt es überproportional häufig ebenfalls v. a. Männer (Brüder, Onkel) mit unerfülltem Kinderwunsch [8]. Andere Studien ergaben, dass mit abnehmender Spermienzahl die Prävalenz genetischer Ursachen ansteigt. Bei unselektierten infertilen Männern findet sich nach Abschluss der heute üblichen Diagnostik bei etwa jedem 20.–25. Patienten eine genetische Ursache im Vergleich zu etwa jedem 5. Patienten mit einer Azoospermie (■ **Tab. 1**, [14]). Ein evidenzbasierter Konsens über Spermienkonzentrationen/-zahlen, ab denen eine weitergehende genetische Abklärung indiziert ist, existiert allerdings nicht [7]. Für die genetische Diagnostik bei Kinderwunschaaren gibt es allerdings nach wie vor aktuelle Empfehlungen auf dem Niveau der Expertenmeinung aus dem Jahr 2004 [6]. Die Ent-

scheidung über die einzuleitenden genetischen Analysen sollte insofern unter Berücksichtigung der in der andrologischen Diagnostik erhobenen Befunde erfolgen, wobei die Basisdiagnostik mindestens aus der Erhebung der (Paar-)Anamnese und des somatischen Befundes (einschließlich Skrotalsonographie), endokrinologischer Analytik (wenigstens FSH, LH und Testosteron) und der Ejakulatuntersuchung bestehen sollte.

Bei den klinisch relevanten genetischen Ursachen stehen Chromosomenaberrationen (inkl. Klinefelter-Syndrom) und Mikrodeletionen der AZF-Loci des Y-Chromosoms im Vordergrund. Mutationen im *CFTR*-Gen können neben einer Mukoviszidose zu einer isolierten obstruktiven Azoospermie ohne Spermatogenesestörung führen. Der genetisch bedingte hypogonadotrope Hypogonadismus (inkl. Kallmann-Syndrom) stellt die einzige eindeutig endokrine und kausal behandelbare Ursache der männlichen Infertilität dar und wird in einem

gesonderten Artikel dieses Sonderheftes behandelt. Auf seltene syndromale Formen sowie spezifische Störungen der Spermienmorphologie und -funktion wird am Ende des Artikels kurz eingegangen.

Verknüpfung von andrologischer und genetischer Diagnostik

Die Kombination aus Sonographie, Hormon- und Ejakulatanalyse zeigt das Ausmaß der Spermatogenesestörung an, liefert darüber hinaus aber auch Hinweise auf die Lokalisation der Ursache. Die Beurteilung der andrologischen Befunde ist im Hinblick auf die einzuleitende genetische Diagnostik von Wichtigkeit, um die folgenden typischen Situationen abgrenzen zu können:

- primär testikuläres Problem mit meist eher kleinen Hoden und über den hypothalamohypophysären Regelkreis konsekutiv meist erhöhtem FSH, „hypergonadotrope Oligo-/Azoosper-

Tab. 1 Genetische Ursachen der männlichen Infertilität (Patienten des Centrums für Reproduktionsmedizin und Andrologie, Universität Münster)

Diagnose	Unselektierte Patienten (n=12.945) (%)	Azoosperme Patienten (n=1446) (%)
<i>Chromosomenaberrationen</i>	2,8	15,0
Klinefelter-Syndrom (47, XXY)	2,6	13,7
XX-Mann	0,1	0,6
Translokation	0,1	0,3
Andere	<0,1	0,3
<i>Mukoviszidose, CBAVD</i>	0,5	3,1
<i>Angeborener hypogonadotroper Hypogonadismus inkl. Kallmann-Syndrom</i>	0,7	0,9
<i>Y-chromosomale AZF-Deletionen</i>	0,3	1,6
Gesamt	4,3	20,6

CBAVD kongenitale bilaterale Aplasie des Vas deferens, AZF Azoospermie-Faktor.

Tab. 2 Referenzwerte der Ejakulatparameter nach WHO 2010

Ejakulatparameter	Normalwert
Ejakulatvolumen	≥1,5 ml
pH-Wert	≥7,2
(Spermienkonzentration)	≥15 Mio. Spermien/ml
Gesamtspermienzahl	≥39 Mio. Spermien/Ejakulat
Spermiengesamtmotilität	≥40% bewegliche Spermien
Spermienprogressivmotilität	≥32% Summe aus vorwärts beweglichen Spermien
Spermienmorphologie	≥4% normal geformte Spermien
Peroxidase-positive Leukozyten	<1 Mio./ml
Mixed-Antiglobulin-Reaktion-(MAR-)Test	<50% motile Spermien mit anhaftenden Erythrozyten
Vitalität (Eosin-Test)	≥58% vitale Spermien
α-Glukosidase (optional)	≥20 mU/Ejakulat
Fruktose (optional)	≥13 μmol/Ejakulat
Zink (optional)	≥2,4 μmol/Ejakulat

mie“; am häufigsten in der andrologischen Praxis; unspezifisches Screening auf Chromosomenstörungen und AZF-Deletionen indiziert;

- Verschlussazoospermie: normal große Hoden, normales FSH als Zeichen einer intakten Spermatogenese aber Obstruktion der ableitenden Samenwege; *CFTR*-Analyse;
- primär endokrine Ursache mit inadäquater Gonadotropinsekretion (niedriges FSH, meist auch LH, teilweise Ausfall weiterer hypophysärer Achsen); spezifische molekulargenetische Diagnostik.

Die Ejakulatanalyse stellt die zentrale (aber nicht alleinige!) Diagnostik des infertilen Mannes dar und sollte den WHO-Richtlinien entsprechend erfolgen, die im letzten Jahr überarbeitet wurden [19]. Zur Standarduntersuchung des Ejakulats gehören unverändert die Bestimmung der Parameter Volumen, pH-Wert, Spermienkonzentration, Gesamtspermienzahl, Spermienmotilität, -morphologie und -vitalität sowie das Vorhandensein von Rundzellen, Leukozyten und Spermiantikörpern. Optional ist die Bestimmung von biochemischen Markern (Glukosidase, Fruktose und Zink), z. B. bei niedrigem Ejakulatvolumen und Verdacht auf eine Obstruktion der ableitenden Samenwege. Die optimale Karenzzeit sollte zwischen 48 h und maximal 7 Tagen liegen, da die Ergebnisse bei längerer oder kürzerer Karenz nicht aussagekräftig sind. Es sollten mindesten 2 Ejakulatana-

lysen erfolgen, da die Werte stark schwanken können.

Bei einer Azoospermie kommt eine Hodenbiopsie mit dem Ziel der Gewinnung von Spermien (testikuläre Spermienextraktion, TESE) in Frage. Das histologische Bild kann dabei von einer qualitativ und quantitativ intakten Spermatogenese bei obstruktiver Azoospermie über eine sog. „gemischte Atrophie“ oder in seltenen Fällen einem Meiosearrest bis hin zum Sertoli-Cell-Only-Syndrom (keine Keimzellen) reichen, korreliert aber nur wenig mit den bekannten Ursachen (s. u.).

Wichtigste Änderung in den neuen WHO-Richtlinie ist die Einführung evidenzbasierter unterer Referenzwerte (5%-Perzentile, ■ Tab. 2) für die einzelnen Ejakulatparameter, denen eine Studie der WHO an 4500 Probanden aus 14 Ländern zugrunde liegt, davon 1941 Väter mit einer „time to pregnancy“ von unter 12 Monaten. Anzumerken ist, dass der Grenzwert der Gesamtspermienzahl (WHO 1999: 40 Mio./Ejakulat, WHO 2010: 39 Mio./Ejakulat) nahezu unverändert blieb und die Gesamtspermienzahl am stärksten mit der Chance auf eine natürliche Schwangerschaft korreliert. Nichtsdestotrotz können durchaus auch Männer mit niedrigeren Spermienzahlen auf natürlichem Weg Väter werden und andererseits kann selbst bei optimalen Spermienwerten eine Schwangerschaft ausbleiben. Exemplarisch sei das Alter der Partnerin als entscheidender Faktor für die Fertilität des *Paares* ge-

nannt. Dementsprechend ist die Entscheidung über angestrebte Formen der assistierten Reproduktion, also In-vitro-Fertilisation (IVF) ggf. mit intrazytoplasmatischer Spermieninjektion (ICSI), von vielen Faktoren abhängig.

Chromosomenstörungen

Bei infertilen Männern ist die Prävalenz von Chromosomenanomalien etwa um den Faktor 10–15 im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung deutlich erhöht [15, 16]. Dabei finden sich v. a. Veränderungen der Autosomen (meist balancierte und Robertson-Translokationen, aber auch Insertionen, Inversionen, Duplikationen, Ring- und Markerchromosomen) mit zunehmender Oligozoospermie häufiger. Bei Männern mit Azoospermie stehen im Gegensatz dazu Störungen der Geschlechtschromosomen im Vordergrund, allen voran das Klinefelter-Syndrom, auf das im Folgenden gesondert eingegangen wird. Die Kausalität der Chromosomenstörung im Hinblick auf die Infertilität kann im Einzelfall nicht nachgewiesen werden. Es gibt aber Hinweise darauf, dass die veränderten Chromosomen zu einer Störung der Meiose, damit der Spermatogenese und letztlich zur Oligo- oder Azoospermie führen.

Bei den Patienten mit unerfülltem Kinderwunsch handelt es sich – abgesehen von seltenen syndromalen Fällen – i. d. R. um sonst gesunde Männer, und die Chromosomenstörung führt als einziges Symptom (wahrscheinlich) zur Spermatogenesestörung. Eine entsprechende Beratung hinsichtlich der Risiken (erhöhtes Risiko für Fehl- und Totgeburten sowie für geistige- und/oder körperliche Behinderungen bei lebend geborenen Kindern durch Vererbung eines unbalancierten Chromosomensatzes) für eine zukünftige Schwangerschaft (z. B. nach ICSI) ist mit anderen Beratungssituationen bei Nachweis z. B. einer Translokationsträgerschaft vergleichbar. Wenn aufgrund einer hochgradigen Oligo- oder Azoospermie eine ICSI-Therapie als einzige Möglichkeit zur möglichen Erfüllung des Kinderwunsches in Frage kommt, sollte allerdings zusätzlich auf die damit verbunden Risiken (u. a. erhöhtes Basisrisiko, Imprintingstörungen) eingegangen werden.

Zusammenfassend ist bei jedem infertilen Mann mit Oligo- oder Azoospermie eine Chromosomenanalyse indiziert, und in diesem Zusammenhang sei darauf hingewiesen, dass bei unerfülltem Kinderwunsch, unabhängig vom Chromosomenbefund des Mannes, auch bei Frauen die Wahrscheinlichkeit für die Trägerschaft einer Chromosomenstörung höher ist. Insofern sollte auch diesen vor einer ICSI-Therapie eine Chromosomenanalyse angeboten werden.

Klinefelter-Syndrom

Das von Harry F. Klinefelter 1942 erstmals beschriebene Klinefelter-Syndrom stellt die häufigste numerische Chromosomenanomalie beim Mann insgesamt (Prävalenz in der Allgemeinbevölkerung 0,1–0,2%), bei infertilen Männern (etwa 3%) und bei azoospermen Patienten (etwa 10–15%) und damit die häufigste bekannte genetische Ursache der männlichen Infertilität dar. Etwa 80–90% der Klinefelter-Männer haben den „typischen“ 47,XXY-Karyotyp, wobei die restlichen (in absteigender Häufigkeit) verschiedene Mosaik (häufig z. B. 47,XXY/46,XY), zusätzliche Geschlechtschromosomen (48,XXXY; 48,XXYY; 49,XXXXY) oder strukturell veränderte X-Chromosomen tragen [2, 5]. Im Gegensatz zu autosomalen Trisomien, die wie z. B. das Down-Syndrom nur in etwa 10% der Fälle paternalen Herkunft sind, stammt das überzählige X-Chromosom beim Klinefelter-Syndrom in der Hälfte der Fälle vom Vater bzw. der Mutter. Während ein maternales Klinefelter-Syndrom durch Non-Disjunction in der Meiose I oder II bzw. in einer frühen postzygotischen Phase entstehen kann, kann ein väterliches X-Chromosom nur durch Fehler in der Meiose I hinzukommen (■ **Abb. 1**). Die Pathophysiologie des Klinefelter-Syndroms ist weitestgehend unklar; diskutiert werden Gen-Dosiseffekte, insbesondere von Genen der pseudoautosomalen Region und solchen, die der X-Inaktivierung entgehen, eine insgesamt veränderte X-Inaktivierung sowie ein Einfluss der elterlichen Herkunft des X-Chromosoms/der X-Chromosomen [12].

Das Klinefelter-Syndrom ist klinisch durch hypergonadotropen Hypogona-

medgen 2011 · 23:259–266 DOI 10.1007/s11825-011-0274-z
© Springer-Verlag 2011

F. Tüttelmann

Genetische Aspekte bei Spermatogenesestörungen

Zusammenfassung

Bei unerfülltem Kinderwunsch, der etwa 10–15% aller Paare betrifft, zeigt sich in etwa der Hälfte der Fälle eine (Mit-)Ursache aufseiten des ansonsten gesunden Mannes, bei dem sich i. d. R. eine eingeschränkte Spermienzahl im Ejakulat (Oligo- oder Azoospermie) findet. Zu den klinisch relevanten genetischen Ursachen für Spermatogenesestörungen gehören insbesondere Chromosomenaberrationen (inkl. Klinefelter-Syndrom) und Y-chromosomale Mikrodeletionen der AZF-Loci. Mutationen im CFTR-Gen können neben einer Mukoviszidose zu einer isolierten obstruktiven Azoospermie ohne Spermatogenesestörung führen. Nach der andrologischen Basisdiagnostik sollten entsprechend den Befunden die genetischen Untersuchungen veranlasst werden. Chromosomenstörungen finden sich mit abnehmender Spermienzahl häufiger. Bei einer Oligozoospermie stehen Veränderungen (z. B. Translokationen) der Autosomen

im Vordergrund, während für eine Azoospermie in 10–15% ein Klinefelter-Syndrom ursächlich ist. Die klassischen AZF-Deletionen finden sich ausschließlich bei Männern mit hochgradiger Oligo- oder Azoospermie und haben prognostische Bedeutung: Bei Trägern einer kompletten AZFa- oder AZFb-Deletion ist im Gegensatz zu Männern mit AZFc-Deletion eine Hodenbiopsie mit dem Ziel der Spermengewinnung nicht erfolgversprechend. Daneben kommen in seltenen Fällen syndromale Formen und spezifische Spermiendefekte (Globozoospermie, Zilienstrukturdefekte) als genetische Ursachen einer Infertilität in Frage.

Schlüsselwörter

Männliche Infertilität · Spermatogenese · Chromosomenaberration · Klinefelter-Syndrom · AZF-Deletion

Genetic aspects of disorders of spermatogenesis

Abstract

The cause for infertility which affects about 10–15% of all couples may be found in approximately half of the cases in the male partners who usually exhibit reduced sperm counts in the ejaculate (i.e. oligozoospermia or azoospermia). The clinically most relevant genetic causes of spermatogenic failure are chromosomal aberrations including Klinefelter's syndrome and Y chromosomal microdeletions of the AZF loci. Aside from the full clinical picture of cystic fibrosis, mutations in the CFTR gene can cause an isolated obstructive azoospermia without spermatogenic impairment. Genetic investigations should depend on the results of andrological examinations. Chromosomal aberrations are detected more frequently with decreasing sperm counts, where autosomes (e.g. transloca-

tions) are predominantly involved in men with oligozoospermia whereas in 10–15% azoospermia is caused by Klinefelter's syndrome. Classical AZF deletions are found only in men with severe oligospermia or azoospermia and have a prognostic value. In contrast to men with AZFc deletions, carriers of complete AZFa and AZFb deletions have virtually no chance for testicular sperm extraction and a testicular biopsy is not advised. Rare cases of male infertility may be caused by specific syndromes or sperm defects (e.g. globozoospermia and disorders of ciliary structure).

Keywords

Male infertility · Spermatogenesis · Chromosomal aberration · Klinefelter syndrome · AZF deletion

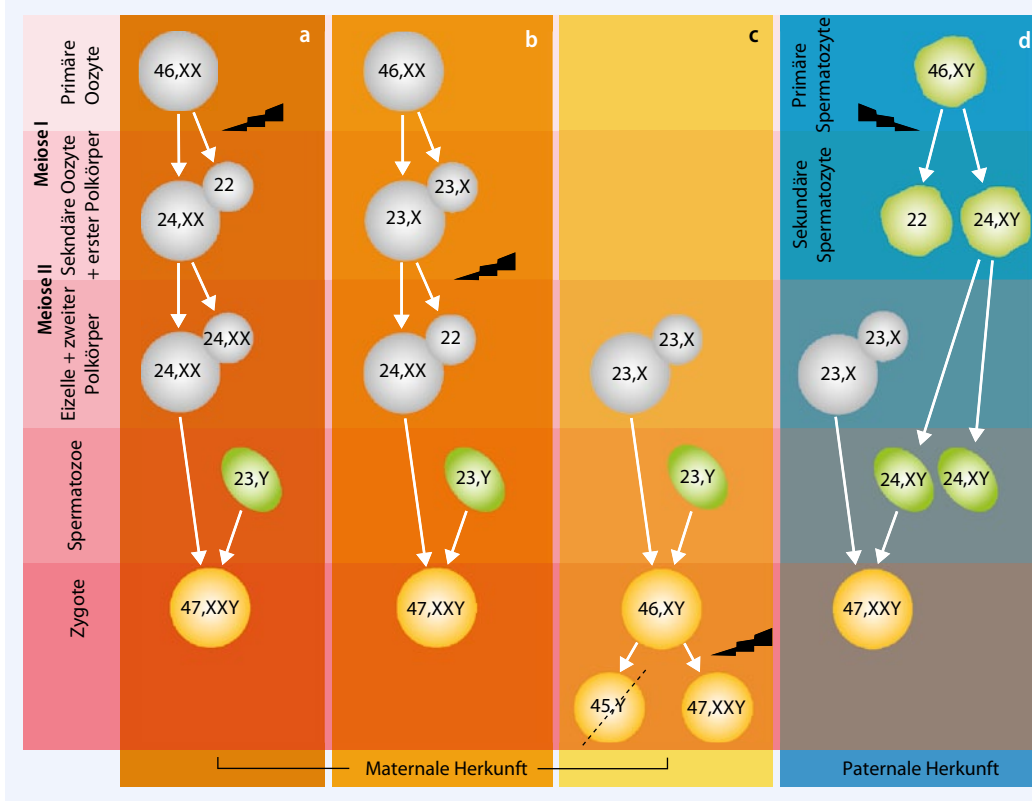


Abb. 1 ◀ Verschiedene Entstehungsmechanismen des Klinefelter-Syndroms durch Non-Disjunction (dargestellt durch Pfeile) in der maternalen Meiose I (a), maternalen Meiose II (b), während einer der ersten postzygotischen Teilungen (c) und der paternalen Meiose I (d). (Mod. nach Tüttelmann u. Gromoll 2010, [12])

dismus, d. h. die Kombination aus Testosteronmangel und Infertilität aufgrund einer Azoospermie, gekennzeichnet, wobei der Phänotyp insgesamt hochvariabel ist. Ein geringes Hodenvolumen (meist <6 ml kombiniertes Hodenvolumen), eine Azoospermie (nur <8% der Klinefelter-Patienten haben eine hochgradige Oligozoospermie) und deutlich erhöhte Gonadotropine (LH und FSH) sind insofern Hinweise auf ein Klinefelter-Syndrom. Der „typische“ Patient wird darüber hinaus traditionell u. a. als groß, mit spärlicher Behaarung, Gynäkomastie und herabgesetzten verbalen Fähigkeiten beschrieben [1]. Allerdings kann das klinische Bild von Zeichen des schweren Androgenmangels, teilweise ausbleibender oder unvollständiger Pubertät bis hin zu normal virilisierten Männern reichen, die einen Arzt nur wegen ihres unerfüllten Kinderwunsches aufsuchen. Diese Variabilität erklärt vermutlich, warum nach Schätzungen einer dänischen Studie weniger als 10% der Betroffenen bis zur Pubertät und lebenslang auch nur 25% diagnostiziert werden [2]. Insbesondere bei Patienten mit Azoospermie sollte immer ein Klinefelter-Syndrom mittels Chromosomenanalyse ausgeschlossen werden.

An dieser Stelle seien die XX-Männer (Karyotyp 46,XX) erwähnt, bei denen typischerweise Material des Y-Chromosoms inklusive SRY-Gen an ein X-Chromosom transloziert ist. XX-Männer sind sehr viel seltener (etwa 1 von 20.000 neugeborenen Jungen) als Männer mit Klinefelter-Syndrom und klinisch nur teilweise mit diesen vergleichbar. In der Regel haben XX-Männer einen insgesamt auffälligeren Phänotyp (häufiger Testosteronmangel, Hodenhochstand, Gynäkomastie) und sind im Gegensatz zu XXY-Männern kleiner als normale XY-Männer [18].

Während früher die Diagnose eines Klinefelter-Syndroms gleichbedeutend mit „absoluter Infertilität“ war, konnte durch Studien der letzten Jahre gezeigt werden, dass bei etwa 50% der Männer mit Klinefelter-Syndrom Spermien durch eine Hodenbiopsie mit TESE gewonnen werden können [4]. So besteht heute auch für diese Patienten im Rahmen einer ICSI eine Chance auf Erfüllung des Kinderwunsches. Die hohe Rate an positiven Hodenbiopsien wird durch spezielle Operationstechniken erreicht, die durch Mikrodissektion das gezielte Auffinden von Tubuli mit fokaler Spermato-genese zulassen. Die Erfolgswahrscheinlichkeit scheint mit

zunehmendem Alter des Patienten abzunehmen und eine Testosteronsubstitution wirkt sich wahrscheinlich negativ aus, sodass bei Erstdiagnose eines Patienten mit Klinefelter-Syndrom auch bei aktuell nicht bestehendem Kinderwunsch die Möglichkeit einer Hodenbiopsie/TESE und Kryokonservierung angesprochen werden sollte.

Die aktuelle Datenlage mit etwa 250 publizierten testikulären Spermienextraktionen und 100 Kindern (fast ausschließlich nach ICSI) bei Klinefelter-Patienten lässt eine abschließende Beurteilung der genetischen Risiken nicht zu. Einzelne Studien schlussfolgern bei einer geringen Fallzahl ein um das 3- bis 4-Fache gegenüber der Allgemeinbevölkerung erhöhtes Risiko für männliche Nachkommen, selbst ein Klinefelter-Syndrom zu haben. Es gibt auch Hinweise auf eine höhere Inzidenz von Chromosomenstörungen bei den gezeugten Kindern, die sowohl Geschlechtschromosomen als auch Autosomen betreffen können. Allerdings scheint sowohl die Erfolgsrate einer eintretenden Gravidität als auch der Geburt eines Kindes mit ICSI-Therapien aus anderer Indikation vergleichbar. Wie im Vorfeld jeder ICSI soll-

te eine umfassende genetische Beratung und Abwägung erfolgen.

Y-chromosomale Deletionen

Zunächst wurde 1996 das „Deleted-in-Azoospermia-(DAZ-)Gen“ und daraufhin einzelne Deletionsmuster im langen Arm des Y-Chromosoms beschrieben, die als Azoospermiefaktor (AZF) *a*, *b* und *c* bezeichnet werden (Abb. 2). Verluste der AZF-Regionen können durch Mikrodeletionen, aber auch durch strukturell veränderte Y-Chromosomen, wie z. B. Iso- oder Ringchromosomen, entstehen. Nach der vollständigen Sequenzierung des Y-Chromosoms konnte der Entstehungsmechanismus der AZF-Deletionen als homologe Rekombination zwischen repetitiven Sequenzen (Palindromen) aufgeklärt werden. Die klassischen AZF-Deletionen stellen eine genetische Ursache der männlichen Infertilität mit eindeutiger Kausalität dar; sie werden nur bei Männern mit Azoo- oder hochgradiger Oligozoospermie gefunden, nicht bei normaler Spermatogenese [3].

Die molekulargenetische Analyse auf Y-chromosomale Mikrodeletionen ist routinemäßig relativ einfach und günstig möglich und erklärt die weite Verbreitung – tatsächlich handelt es sich um eine der am häufigsten durchgeführten molekulargenetischen Analysen. Seit der Veröffentlichung von Best-Practice-Guidelines [10] ist die Analyse standardisiert und eine externe Qualitätskontrolle steht zur Verfügung. Kurz gefasst werden zwei getrennte Multiplex-PCR-Ansätze mit jeweils einem STS-Marker pro AZF-Region durchgeführt, sodass bei der anschließenden Gelelektrophorese je 2 Banden pro Region auswertbar sind. Fehlende Amplifikation von beiden Primern einer Region weist auf eine Mikrodeletion dieses Bereichs hin, die in nahezu 100% als komplette Deletion angesehen werden kann. Aufgrund der bisherigen umfangreichen Daten ist davon auszugehen, dass mit diesem Protokoll mindestens 95% der klinisch relevanten Deletionen erfasst werden, auch wenn sehr selten partielle Deletionen beschrieben wurden.

Die AZFa-Region beinhaltet 2 Gene (*USP9Y* und *DDX3Y*, ehemals *DBY*), von denen jeweils nur eine Kopie existiert,

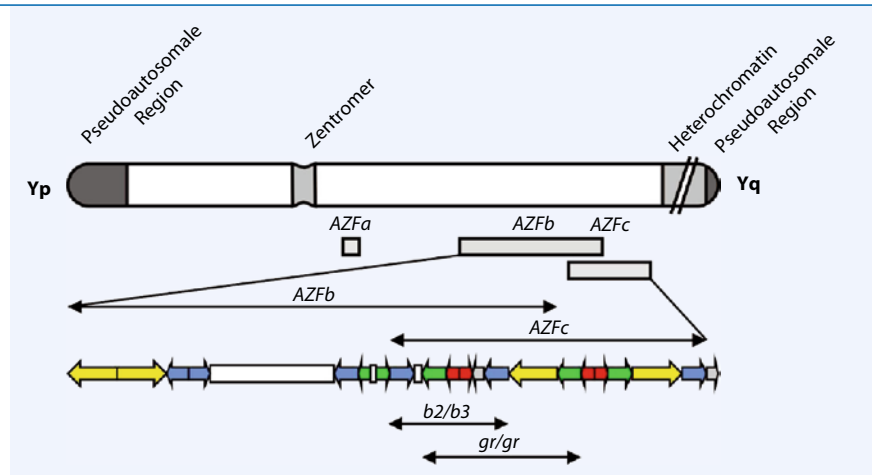


Abb. 2 ▲ Y-Chromosom mit klassischen AZFa, -b und -c-Deletionen und repetitiven Sequenzen (Palindromen, farblich markiert), die die Entstehung dieser und weiterer (b2/b3, gr/gr) durch homologe Rekombination zwischen gleichartigen Bereichen erklärt. (Nach Noordam und Repping 2006, [9])

während die teilweise überlappenden AZFb- und AZFc-Regionen zusammen 24 Gene umfassen, von denen die meisten als mehrfache Kopien vorliegen (insgesamt 46 Kopien). Die komplette AZFb-Deletion entfernt 32 Kopien von Genen und Transkriptionseinheiten, und die AZFc-Deletion 21 Kopien. In der AZFc-Region liegt unter anderem das *DAZ*-Gen, von dem 4 Kopien in 2 Komplexen von jeweils 2 Kopien vorkommen. In männlichen Keimzellen wurde zwar die Expression der *DAZ*-mRNA nachgewiesen, aber die genaue zelluläre Funktion des Proteins ist unklar. Die Funktion der anderen Gene ist ebenfalls Gegenstand aktueller Forschung, aber bislang wurde für kein einzelnes Gen ein kausaler Zusammenhang zu der schweren Spermatogenesestörung bei kompletten AZF-Deletionen gezeigt.

Die Prävalenz der AZF-Deletionen reicht bei Männern mit nichtobstruktiver Azoospermie bis 20%, bei Männern mit hochgradiger Oligozoospermie bis 10% und beträgt in der Gesamtheit der infertilen Männer bis 1%. Die Frequenz hängt dabei maßgeblich vom untersuchten Patientenkollektiv ab: So ist die Prävalenz in Deutschland deutlich niedriger im Vergleich zu anderen Ländern innerhalb und außerhalb Europas [11]. Klassische AZF-Deletionen führen i. d. R. zu einer Azoospermie oder hochgradigen Oligozoospermie (Spermienkonzentration <100.000/ml), selten werden Spermienkonzentrationen bis 1 Mio./ml ge-

funden, kaum noch höhere, keinesfalls mehr als 5 Mio./ml. Abgesehen von der eingeschränkten Spermienzahl gibt es keinen klinischen Parameter zur Diagnose einer AZF-Deletion [11], sodass ein Screening bei Patienten mit hochgradig eingeschränkter Spermienkonzentration und Azoospermie indiziert ist. Bei einer Spermienkonzentration von 1 Mio./ml als Grenzwert werden mindestens 95% der Deletionen diagnostiziert.

Die klassischen Deletionen der AZFa bzw. AZFb-Region (beide etwa 10% aller AZF-Deletionen) führen obligat zu einer Azoospermie und histologisch zu einem Sertoli-Cell-Only-Syndrom oder einem Arrest der Meiose (auf allen Stufen bis zu den runden Spermatozyten). Damit übereinstimmend konnten bislang bei keinem Patienten mit einer kompletten AZFa- oder AZFb-Deletion Spermien in einer Hodenbiopsie gefunden werden, und insofern besteht bei diesen Patienten nach aktuellem Kenntnisstand keine Indikation zur Hodenbiopsie/TESE. Allenfalls könnte auf ausdrücklichen Wunsch hin eine Mikrodissektion versucht werden, da darüber keine ausreichenden Daten vorliegen. Im Gegensatz dazu führen AZFc-Deletionen zu einem heterogenen Bild, wobei etwa die Hälfte der Patienten wenige Spermien im Ejakulat aufweisen und direkt einer ICSI zugänglich sind. Bei der anderen Hälfte, also Männern mit einer AZFc-Deletion und Azoospermie, findet sich i. d. R. histologisch ein SCOS, Meiosearrest oder eine gemischte Atrophie. In

Tab. 3 Auswahl seltener komplexer Syndrome, die mit Infertilität einhergehen (können)

Syndrom	MIM-Nr.	Symptome	Gen
Aarskog-Syndrom	305400	Hypertelorismus, Kleinwuchs, Schalskrotum, Klinodaktylie, Kryptorchismus	<i>FGD1</i>
Noonan-Syndrom	163950	Kleinwuchs, Epikanthus, Ptosis, Pterygium colli, Herzfehler, teilweise mentale Retardierung, Kryptorchismus	<i>PTPN11, RAF1</i>
LEOPARD-Syndrom	151100	Multiple Lentigines, Herzrhythmusstörungen, Hypertelorismus, Pulmonalstenose, Hörstörungen, Kleinwuchs, Hypospadie, Kryptorchismus	<i>PTPN11, RAF1</i>
Autoimmune Polyendokrinopathie	240300	Adrenale Insuffizienz, Hypoparathyreoidismus, Diabetes, Candidainfektionen, Hepatitis, Hypogonadismus	<i>AIRE</i>
Popliteales Pterygium-Syndrom	119500	Lippen-Gaumen-Spalte, popliteales Pterygium, Scrotum bifidum, Kryptorchismus, testikuläre Atrophie	<i>IRF6</i>
Werner-Syndrom	277700	Kleinwuchs, Katarakt, vorzeitiges Altern, Hypogonadismus	<i>RECQL2</i>
Rothmund-Thomson-Syndrom	268400	Katarakt, Poikilodermie, Kleinwuchs, Sattelnase, Kryptorchismus	<i>RECQL4</i>
Ataxia teleangiectatica	208900	Kleinwuchs, Teleangiektasien, Ataxie, Lymphome, Hypogonadismus, Spermatogenesestörung	<i>ATM</i>
Progressive Ophthalmoplegie mit mitochondrialen Deletionen	157640	Ptosis, Hörstörung, Muskelschwäche, Ataxie, testikuläre Atrophie	<i>POLG</i>
Gordon-Holmes-Syndrom	212840	Zerebelläre Ataxie, hypogonadotroper Hypogonadismus	?

LEOPARD „multiple lentigines, ECG conduction abnormalities, ocular hypertelorism, pulmonic stenosis, abnormal genitalia, retardation of growth, deafness“.

etwa 50% dieser Fälle können noch Spermien bei einer Hodenbiopsie/TESE gefunden werden. Die Erfolgsraten einer ICSI bei diesen Männern scheinen allerdings insgesamt mit <10% gering zu sein. Über die Vererbung des Y-Chromosoms und der zu erwartenden Infertilität an Söhne sind die Patienten vor einer ICSI aufzuklären.

Nach der Sequenzierung des Y-Chromosoms wurden kleinere Deletionen innerhalb der *AZFc*-Region beschrieben. Die sog. *gr/gr*-Deletionen (■ **Abb. 2**) werden im Vergleich zu den klassischen *AZF*-Deletionen bei infertilen Männern mit etwa 7% häufiger gefunden, aber auch – seltener – bei Männern mit normaler Spermienkonzentration (etwa 4%). Die Metaanalysen von mehreren Tausend untersuchten Männern belegen eine Assoziation zwischen *gr/gr*-Anlageträgerschaft und Risiko für Infertilität mit einer Odds-Ratio von 1,8–2,4 [13, 17]. Sie stellen somit einen Risikofaktor für eine schlechtere Spermatogenese/Spermienzahl dar, wobei allerdings eine Aussage über die Fertilität im Einzelfall nicht möglich ist. Da sich weder eine therapeutische Konsequenz ergibt, noch eine Aussage über die Folgen bei der Weitergabe an einen Sohn (im Gegensatz zu den *AZFc*-Deletion mit konsekutiver Infertilität) treffen lässt, ist die molekulargenetische Analyse im Rahmen der Fertilitätsdiagnostik derzeit nicht routinemäßig indiziert.

CBAVD, Mutationen des *CFTR*-Gens

Männer mit einer Azoospermie weisen in etwa 3% der Fälle als Ursache eine kongenitale bilaterale Aplasie des Vas deferens (CBAVD) auf, die als Minimalform der Mukoviszidose („*CF*-related-disease“) anzusehen ist und auf Fehlbildungen der Wolff-Gänge, Vorläufer der Samenleiter, basiert. Eine Hypo- oder Aplasie der Nebenhoden sowie Anomalien der Samenblasen können hinzukommen. Klinisch weisen die Patienten eine obstruktive Azoospermie mit intakter Spermatogenese und normal großen Hoden auf. Die Verdachtsdiagnose lässt sich durch die klinische Untersuchung beim Fehlen des Ductus deferens und evtl. auch des Nebenhodens stellen. Bei den Laboranalysen ergeben sich weitere Hinweise auf eine Obstruktion als Kombination aus Azoospermie und unauffälliger Hormonuntersuchung (normales LH, FSH und Testosteron). Darüber hinaus sind i. d. R. folgende Werte erniedrigt: pH-Wert, Ejakulatvolumen sowie Marker des Nebenhodens (α -Glukosidase) und der Samenblasen (Fruktose). Insgesamt bestehen gute Chancen für eine erfolgreiche TESE/ICSI. Patienten mit dem Vollbild einer Mukoviszidose weisen in über 95% der Fälle ebenfalls eine Infertilität bedingt durch eine CBAVD auf. Die *CFTR*-Analyse und Beratung der Patienten folgt der üblichen Routine.

Störungen der Spermienmorphologie und -funktion

Monomorphe Spermiendefekte sind selten und dürften in den meisten Fällen genetische Ursachen haben. Die autosomalrezessiv erbliche primäre ziliäre Dyskinesie („*primary ciliary dyskinesia*“, PCD) mit sehr variablen Symptomen wie u. a. Bronchiektasien und Sinusitis führt zu einer Infertilität aufgrund einer Immotilität der Spermien. Vom Kartagener-Syndrom spricht man, wenn dabei ein Situs inversus hinzukommt (in etwa 50% der Fälle). Die primäre ziliäre Dyskinesie ist ein genetisch heterogenes Krankheitsbild, bei dem Mutationen in unterschiedlichen Dynein-Genen (u. a. *DNAI1, DNAH5* und *DNAH11*) nachgewiesen werden.

Bei der Globozoospermie, die familiär auftreten kann, weisen die Spermien kugelige Köpfe aufgrund eines Akrosomendefekts auf. Diese Spermien können eine Eizelle nicht penetrieren; eine Befruchtung durch ICSI ist aber möglich. Kürzlich wurden homozygote Mutationen im Gen *SPATA16* als Ursache einer Globozoospermie identifiziert.

Syndrome, die mit Infertilität einhergehen

Viele genetische Erkrankungen können mit einer Spermatogenesestörung und Infertilität assoziiert sein. Beispiele nicht seltener Erkrankungen sind die Hämochromatose und die myotone Dystrophie, die

Hier steht eine Anzeige.



neben den typischen Symptomen auch eine Infertilität aufgrund einer Hodenatrophie und Azoo- oder Oligozoospermie einhalten können.

In **Tab. 3** ist eine Auswahl komplexer Syndrome zusammengestellt, die mit Infertilität einhergehen. Jeder infertile Mann sollte im Rahmen der Diagnostik auf das eventuelle Vorliegen eines übergeordneten Syndroms hin klinisch untersucht werden und, falls möglich, sollte eine gezielte molekulargenetische Analyse durchgeführt werden.

Ausblick

In den letzten Jahren wurden viele Kandidatengene oder einzelne Polymorphismen in Assoziations- bzw. Resequenzierungsstudien untersucht. Allerdings konnten seit der Beschreibung der *AZF*-Deletionen vor über 10 Jahren keine genetischen Ursachen für die männliche Infertilität entdeckt werden, die einerseits reproduzierbar mit dem Phänotyp assoziiert sind und andererseits bei einer größeren Zahl von Männern vorkommen [13]. Eine mögliche Erklärung kann die Vielzahl an Genen sein, die an der Spermatogenese beteiligt sind; man geht je nach Schätzung von 500–2000 aus. Da außerdem eine Infertilität weitestgehend selbstlimitierend ist, sind große, betroffene Familien per Definition selten und man kann in den meisten Fällen am ehesten von einer polygen-multifaktoriellen Entstehung ausgehen. Insofern ist die Mutationsanalyse einzelner Gene bei einer unspezifischen Spermatogenesestörung weiterhin der Forschung vorbehalten. Ob sich diese Situation durch die Anwendung der neuen genomweiten Untersuchungsmethoden wie SNP-Array, Array-CGH oder Next-Generation-Sequencing ändern wird, ist gegenwärtig nicht absehbar. Zusammenfassend beschränkt sich die genetische Routinediagnostik bei männlicher Infertilität, abgesehen von seltenen Fällen der CBAVD und spezifischer Spermiendefekte und Syndrome, nach wie vor auf das Screening von Chromosomenstörungen und Y-chromosomalen Deletionen.

Fazit für die Praxis

Bei der Abklärung des infertilen Mannes steht zunächst die andrologische Diagnostik im Vordergrund, aus deren Befunden sich die Indikation zur genetischen Analyse ergibt. Bei Patienten mit reduzierter Spermienproduktion (höhere Prävalenz von Chromosomenberationen inkl. Klinefelter-Syndrom) sollte eine Chromosomenanalyse durchgeführt werden. Eine hochgradige Oligo- oder Azoospermie macht zusätzlich ein Screening auf Y-chromosomale Mikrodeletionen sinnvoll. Bei obstruktiver Azoospermie (V. a. CBAVD) sollte dem Patienten eine Analyse des *CFTR*-Gens angeboten werden. Bei spezifischen Spermiendefekten oder Syndromverdacht können weitere gezielte Analysen angezeigt sein. Einzelgen- oder Polymorphismusanalysen sind derzeit für die Routinediagnostik bei isolierter Spermatogenesestörung nicht indiziert.

Korrespondenzadresse

Dr. F. Tüttelmann

Institut für Humangenetik, Universität Münster
Vesaliusweg 12–14, 48149 Münster
frank.tuettelmann@ukmuenster.de

Interessenkonflikt. Der korrespondierende Autor gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht. Eigene Arbeiten wurden teilweise im Rahmen von der Deutsche Forschungsgemeinschaft geförderten Forschergruppe „Germ Cell Potential“ (FOR 1041, Förderkennzeichen TU 298/1–1) erstellt.

Literatur

- Bojesen A, Gravholt CH (2007) Klinefelter syndrome in clinical practice. *Nat Clin Pract Urol* 4:192–204
- Bojesen A, Juul S, Gravholt CH (2003) Prenatal and postnatal prevalence of Klinefelter syndrome: A national registry study. *J Clin Endocrinol Metab* 88:622–626
- Ferlin A, Arredi B, Speltra E et al (2007) Molecular and clinical characterization of Y chromosome microdeletions in infertile men: A 10-year experience in Italy. *J Clin Endocrinol Metab* 92:762–770
- Fullerton G, Hamilton M, Maheshwari A (2010) Should non-mosaic Klinefelter syndrome men be labelled as infertile in 2009? *Hum Reprod* 25:588–597
- Lanfranco F, Kamischke A, Zitzmann M, Nieschlag E (2004) Klinefelter's syndrome. *Lancet* 364:273–283
- Ludwig M, Gromoll J, Hehr U, Wieacker P (2004) Stellungnahme der Arbeitsgemeinschaft Reproduktionsgenetik der deutschen Gesellschaft für Reproduktionsmedizin: Empfehlung zur genetischen Diagnostik bei Kinderwunschpaaren. *J Reproduktionsmed Endokrinol* 1:190–193

- McLachlan RJ, O'Bryan MK (2010) State of the art for genetic testing of infertile men. *J Clin Endocrinol Metab* 95:1013–1024
- Meschede D, Lemcke B, Behre HM et al (2000) Clustering of male infertility in the families of couples treated with intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 15:1604–1608
- Noordam MJ, Repping S (2006) The human Y chromosome: A masculine chromosome. *Curr Opin Genet Dev* 16:225–232
- Simoni M, Bakker E, Krausz C (2004) EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions. State of the art 2004. *Int J Androl* 27:240–249
- Simoni M, Tüttelmann F, Gromoll J, Nieschlag E (2008) Clinical consequences of microdeletions of the Y chromosome: The extended Münster experience. *Reprod Biomed Online* 16:289–303
- Tüttelmann F, Gromoll J (2010) Novel genetic aspects of Klinefelter's syndrome. *Mol Hum Reprod* 16:386–395
- Tüttelmann F, Rajpert-De Meyts E, Nieschlag E, Simoni M (2007) Gene polymorphisms and male infertility – a meta-analysis and literature review. *Reprod Biomed Online* 15:643–658
- Tüttelmann F, Werny F, Cooper TG et al (2010) Clinical experience with azoospermia: Aetiology and chances for spermatozoa detection upon biopsy. *Int J Androl* 28 [Epub ahead of print]
- Van Assche E, Bonduelle M, Tournaye H et al (1996) Cytogenetics of infertile men. *Hum Reprod* 11(Suppl 4):1–24
- Vincent MC, Daudin M, De MP et al (2002) Cytogenetic investigations of infertile men with low sperm counts: A 25-year experience. *J Androl* 23:18–22; discussion 44–45
- Visser L, Westerveld GH, Korver CM et al (2009) Y chromosome gr/gr deletions are a risk factor for low semen quality. *Hum Reprod* 24:2667–2673
- Vorona E, Zitzmann M, Gromoll J et al (2007) Clinical, endocrinological, and epigenetic features of the 46,XX male syndrome, compared with 47,XXY Klinefelter patients. *J Clin Endocrinol Metab* 92:3458–3465
- World Health Organization (2010) WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. World Health Organization, Geneva