

Redaktion

T. Strowitzki, Heidelberg
 K. Diedrich, Lübeck

Genetische Grundlagen der andrologischen Subfertilität

Chromosomale Auffälligkeiten bei subfertilen Männern

Aneuploidien oder strukturelle chromosomale Aberrationen finden sich bei Männern mit Azoospermie in 14% und bei Oligozoospermie in 5% der Fälle [1, 2]. Am häufigsten ist der Karyotyp 47,XXY, der wie seine Mosaikformen (47,XXY/46,XY) klinisch als Klinefelter-Syndrom (KS) beschrieben wird. Es wird postuliert, dass die Reduktion postmeiotischer Keimzellen, wie sie bei KS-Patienten in der Regel anzutreffen ist, auf einer Interferenz der prämeiotischen Paarung der Geschlechtschromosomen beruht, da das überzählige zweite X-Chromosom mit dem Y-Chromosom in der prämeiotischen Paarungsphase im gleichen intranukleären Gebiet, dem sog. „sex vesicle“ kompetiert (■ **Abb. 1**). Je mehr X-Chromosomen im Karyotyp bei KS-Patienten gefunden werden (z. B. 48,XXXXY; 49,XXXXXY), umso mehr verschiebt sich das Erscheinungsbild des KS-Patienten zum weiblichen Phänotyp. Zur klinischen Ausprägung des KS-Phänotyps erscheint somit die „Dosierung“ der Expression von Genen der X-Chromosomen, die während der fetalen Gonadendentwicklung aktiv sind, wichtig.

▶ Aneuploidien oder strukturelle chromosomale Aberrationen finden sich bei Männern mit Azoospermie in 14% und bei Oligozoospermie in 5% der Fälle

Mosaikkaryotypen wie 45,Xo/46,XY finden sich ebenfalls gehäuft bei subfertilen Männern (4%). Oft ist bei dieser Patientengruppe allerding die Infertilität assoziiert mit

einer gemischten Gonadendysgenese. Am äußeren Genitale fallen Mikropenis, Hypospadie und ein kleines Hodenvolumen auf. Da sich der gleiche Karyotyp auch mit weiblichem Phänotyp findet, wird deutlich, wie schmal der Grat zwischen männlicher und weiblicher Geschlechtsentscheidung im Embryo ist. Beim 45,Xo/46,XY-Mosaikkaryotyp können zusätzlich auch Brüche mit Deletionen im langen Arm des Y-Chromosoms vorkommen, verbunden mit der Translokation eines der Y-Fragmente an das X-Chromosom oder an ein autosomales Chromosom. Erstmals 1976 wurden von Tiepolo und Zuffardi [3] Deletionen auf dem langen Arm des Y-Chromosoms bei Patienten mit andrologischer Subfertilität beschrieben. Da aber bekannt war, dass auch fertile Männer erhebliche Variationen der Länge des langen Y-Arms aufweisen können, blieb zuerst unklar, welche Deletionen von Yq tatsächlich zur Subfertilität eines Mannes beitragen können (■ **Abb. 2**).

Bei einer Subgruppe der infertilen Männer mit 45,Xo/46,XY-Mosaikkaryotyp fiel auf, dass sie zwar ein normales langes Y-Chromosom haben, aber keine Quinacrin-Fluoreszenz zeigen, die sonst diagnostisch typisch für das „normale“ Y-Chromosom ist. Diese Y-Chromosomen werden deshalb auch „non-fluorescent Y chromosomes“ (Ynfs) genannt. Sie entstehen durch Fusion zweier in Yq11 gebrochener Y-Chromosomen, wodurch sich ein neues dizentrisches sog. „Iso-Yp- (idic-Yp-)“ Chromosom bildet (■ **Abb. 2**). Betroffene Männer sind in der Regel azoosperm, da die meiotische Paarung des X- und Y-Chromosoms zugunsten einer Selbstpaarung des Iso-Yp-Chromosoms zwischen seinen doppelten kurzen Armen entfällt.

Bekannt bei subfertilen Männern ist auch der Karyotyp 45,X. Er entsteht durch einen Verlust des größten Teils des euchromatischen langen Y-Arms (Yq11). Der kurze Y-Arm ist dann einschließlich des SRY-Gens



Abb. 1 ▶ Meiotische Störung der Paarung von X- und Y-Chromosom (s. Pfeil) im Sexvesikel der Spermatozyten im Pachytän bei einem Mann mit 47,XXY-Karyotyp. (Bild modifiziert aus [58])

Chromosomale Rearrangements in Yq11 die männliche Subfertilität verursachen

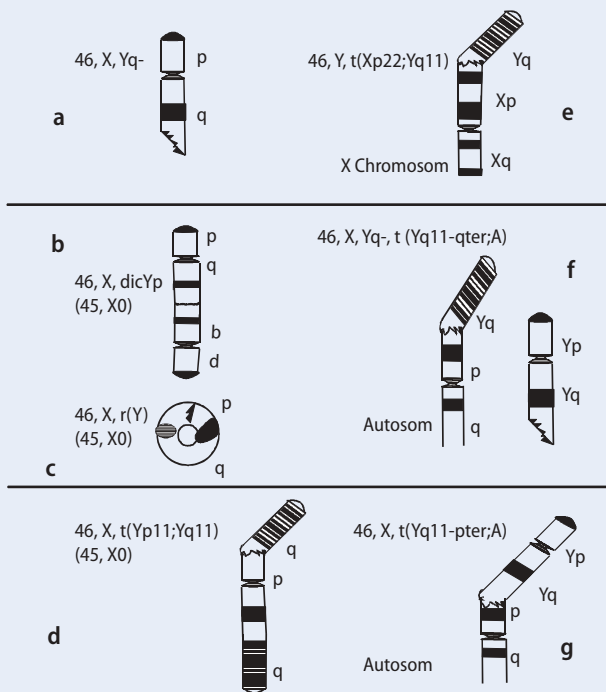


Abb. 2 ◀ Schematische Darstellung verschiedener chromosomaler Veränderungen des Y-Chromosoms in Yq11, deren Auftreten männliche Subfertilität verursacht. **a** Monozentrisches Y-Chromosom mit Bruch im langen Y-Arm in Yq11. **b** Dizentrisches Y-Chromosom mit Bruch und anschließender Fusion von 2 Yq11-Chromosomen in Yq11. Dabei wird meist eine 45,X0-Zelllinie als Mosaik erzeugt. **c** Y-Ring-Chromosom mit Bruch und Fusion in Yq11-Yp. **d** Translokalisierung des Y-Chromosoms mit Bruch in Yq11 zu 2 Y-Chromosomen in Yp. **e** Translokalisierung des Y-Chromosoms mit Bruch in Yq11 zu X-Chromosom in Xp. **f, g** Translokalisierung des Y-Chromosoms mit Bruch in Yq11 zu Autosomen, meist zu den akrozentrischen Chromosomen 13, 14, 15, 21, 22

auf ein Autosom transloziert, meist auf den kurzen Arm eines akrozentrischen Chromosoms: 13, 14, 15, 21 oder 22 (■ **Abb. 2**).

Veränderungen an autosomalen Chromosomen sind nur selten bei Männern mit Azoospermie, aber häufiger bei Männern mit Oligozoospermie anzutreffen [4]. Auch perizentrische Inversionen in den Chromosomen 1, 3, 5, 6, 10 können zu einer geringeren Zahl postmeiotischer Spermien bis hin zur Azoospermie führen.

Zur Bestätigung chromosomaler Auffälligkeiten, die üblicherweise in Lymphozyten diagnostiziert werden, ist eine Analyse postmeiotischer reifer Samenzellen unerlässlich. Da chromosomale Abnormalitäten durch die chromosomalen Verteilungsmechanismen während der Meiose meist erfolgreich eliminiert oder zumindest reduziert werden [5], müssen chromosomale Auffälligkeiten in Lymphozytenkernen nicht notwendigerweise auch in den Kernen der postmeiotischen Keimzellen vorhanden sein. Für die Diagnostik chromosomaler Auffälligkeiten in Spermien hat sich heute die Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) durchgesetzt. Sie erlaubt eine direkte Analyse der Anzahl einzelner Markerchromosomen durch die quantitative Evaluierung der zugehörigen FISH-Spots in den denaturier-

ten Spermienkernen [6]. Chromosomale Translokationen lassen sich identifizieren, wenn die beteiligten Chromosomen bereits über die Chromosomenanalyse in den Lymphozytenkernen bekannt sind. In der FISH-Analyse im Spermienkern werden diese Chromosomen dann mit einer spezifischen Farbe dargestellt. So kann im Prinzip jedes Chromosom, mit einer spezifischen Farbe markiert, in den Spermienkernen diagnostiziert werden [7].

➤ Für die Diagnostik chromosomaler Auffälligkeiten in Spermien hat sich die Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung durchgesetzt

Die wichtigste klinische Indikation für eine FISH-Spermienanalytik ist die schwere Oligoasthenoeratozoospermie (OAT-Syndrom). Bei dieser Patientengruppe werden chromosomale Disomien bis zu 5,4% gefunden, verglichen mit 0,05–0,2% bei fertilen Männern [6]. Auch diploide Chromosomen sind deutlich häufiger als in der Kontrolle (0,4–9,6% vs. 0,04%). Insgesamt wird die Häufigkeit von Aneuploidien in Spermien von OAT-Patienten auf 33–74% geschätzt im Vergleich zu 4,1–7,7% bei fertilen Männern.

Kenntnis um diese Zahlen ist besonders wichtig für das genetische Beratungsgespräch vor ICSI, da hier nur unselektiert einzelne Spermien in die Oozyte injiziert werden können und da gerade geschlechtschromosomale Aneuploidien die höchste Transmissionsrate auf die Nachkommenschaft haben [8, 9].

Dieses Transmissionsrisiko kann allerdings nur durch die statistische Auszählung einer individuellen Samenprobe abgeschätzt werden, da Spermien, an denen eine FISH-Analytik durchgeführt worden ist, nicht mehr für die ICSI zur Verfügung stehen. Die DNA dieser Spermien ist naturgemäß denaturiert. Da auch die klinischen Parameter Morphologie und Motilität keine sicheren Rückschlüsse auf chromosomale Aneuploidien in einzelnen Spermien erlauben [9, 10], bleibt das Risiko der Transmission von Spermianeuploidien, wenn auch reduziert, nach FISH bestehen.

Mikrodeletionen bei subfertilen Männern: AZF-Mikrodeletionen in Yq11

Vor 30 Jahren hat die Beobachtung von Brüchen auf dem langen Arm des Y-Chromosoms im Sinn von „De-novo-Mutationen“ bei infertilen Männern Tiepolo und

Zuffardi veranlasst, einen sog. „Azoo-spermiefaktor“ (AZF) in dieser Y-Region zu postulieren [3]. Die molekulargenetische Analyse hat dann zu einer Einteilung des AZF auf Yq11 in 3 genomische Y-Regionen (AZFa, AZFb, AZFc) geführt. In Sequenzanalysen konnte gezeigt werden, dass AZFb und AZFc überlappen [11, 12]. Die 3 AZF-Mikrodeletionen führen zu einer Unterbrechung der Spermatogenese in verschiedenen Reifungsphasen. Während bei AZFa-Deletionen stets ein komplettes Sertoli-cell-only-Syndrom (SCO) zu beobachten ist, findet sich bei Deletion der kompletten AZFb-Region ein Arrest auf dem Entwicklungsstadium der Spermatozyten, postmeiotische Keimzellen können nicht identifiziert werden. Nur bei AZFc-Deletionen besteht eine große histologische Variabilität. In einigen Abschnitten der testikulären Tubuli können nur Sertoli-Zellen nachgewiesen werden, in anderen finden sich alle Stufen der Spermiogenese bis hin zu reifen Spermien, wenn auch in geringer Zahl. Deshalb können AZFc-Deletionen auch natürlicherweise vom Vater auf den Sohn vererbt werden.

■ **In der reproduktionsmedizinischen Klinik ist die differenzielle AZF-Deletionsdiagnostik insbesondere bei Patienten mit nichtobstruktiver Azoospermie und Kinderwunsch wichtig.**

Über das TESE-Verfahren, d. h. eine testikuläre Spermienextraktion nach Hodenbiopsie, kann der Kinderwunsch dieser Männer oft erfüllt werden. Liegt auf dem Y-Chromosom dieser Patienten allerdings eine komplette AZFa- oder AZFb-Deletion vor, wird das TESE-Verfahren mit großer Wahrscheinlichkeit auch im Hodengewebe keine reifen Spermien isolieren können, liegt eine AZFc-Deletion vor, ist die Spermienprognose dagegen sehr günstig.

In jeder AZF-Region sind mehrere Y-Gene bekannt, die im Fall einer funktionellen Deletion zu andrologischer Subfertilität führen können (■ **Abb. 3**). In AZFa scheint es das *DBY*-Gen zu sein, das bei Deletion zum SCO-Syndrom führt [13]. Da Deletionen im *USP9Y*-Gen vererbt werden können [14], kann ein Defekt dieses Gens sicherlich nur eine geringe Rolle für die Entstehung des SCO-

Gynäkologische Endokrinologie 2007 · 5:13–20 DOI 10.1007/s10304-006-0170-9
© Springer Medizin Verlag 2007

P. H. Vogt

Genetische Grundlagen der andrologischen Subfertilität

Zusammenfassung

Genetische Ursachen der andrologischen Subfertilität können in 4 Gruppen eingeteilt werden: (I) chromosomale Aneuploidien und strukturelle Veränderungen, bei denen Gene auf spezifischen Chromosomen ihr Expressionsprofil verändert haben, z. B. 47,XXY-Karyotyp, das Klinefelter-Syndrom, (II) Mikrodeletionen, bei denen Deletionen oder Umgruppierungen von Genen zu einer veränderten Expression geführt haben, z. B. genomische AZF-Deletionen auf dem langen Arm des Y-Chromosoms, (III) Einzelgendifekte, bei denen der Verlust oder die Veränderung eines einzelnen Gens zu männlicher Infertilität führt, z. B. im Zystischen-Fibrose-Gen (*CFTR*) oder im Kallmann-1-Gen (*KAL-1*), und

(IV) Imprintingdefekte, bei denen der spezifische Code der DNA- und Chromatinmethylierung für die gezielte Regulierung der mütterlichen oder väterlichen Genaktivität verändert ist, beobachtet z. B. bei Oligozoospermie mit und ohne morphologischen Keimzellveränderungen. In diesem Beitrag werden die häufigsten genetischen Ursachen der männlichen Subfertilität vorgestellt und die sich daraus ergebenden Konsequenzen für die Klinik diskutiert.

Schlüsselwörter

Androgenrezeptorfunktion · Chromosomenaneuploidien · Kallmann-Syndrom · Klinefelter-Syndrom · Pleiotrope Genmutationen

The genetic bases of andrological subfertility

Abstract

Genetic lesions causing male subfertility can be roughly grouped into four classes: (1) chromosomal aneuploidies and structural rearrangements by which genes on specific chromosomes have changed their expression profiles, e.g. the 47,XXY karyotype associated with Klinefelter's syndrome, (2) microdeletions by which deletions or rearrangements of a contiguous number of genes have lost or altered their normal expression pattern, e.g. the genomic AZF deletions on the long arm of the Y chromosome, (3) single gene defects in which the expression of a single gene has been changed or lost causing male infertility, e.g. the "cystic fibrosis" gene (*CFTR*) and the "Kallmann-1" gene (*KAL-1*), and (4) imprint-

ing defects, i.e., in which the normal parental specific code of DNA and chromatin methylation regulating maternal and paternal genetic activity, separately, has been lost, e.g. observed in men with a reduced sperm count with or without impaired morphology. Here, the major genetic causes of male subfertility are presented and the corresponding practical consequences for the clinic discussed.

Keywords

Androgen-receptor function · Chromosomal aneuploidy · Kallmann syndrome · Klinefelter's syndrome · Pleiotropic gene mutations

Tab. 1 Klinische Syndrome mit möglicher Beeinträchtigung der männlichen Fertilität^a

Syndrom	Chromosomenposition	Genlokus	OMIM-Referenznummer	
			Krankheit	Gen
Androgen-Insensitivität-Syndrom (AIS: CAIS; PAIS; MAIS)	Xq11–12	AR	300068	313700
Azoospermiefaktor (AZFa, AZFb, AZFc)	Yq11	14 AZF-Gene ^b	415000	415000
Bardett-Biedl-Syndrom (BBS2)	16q21	BBS2	209900	606151
Zystische Fibrose (CF)	7q31.2	CFTR	219700	602421
Bilaterale Aplasia Vas deferentia (CBAVD)			277180	602421
Kryptorchismus	19p13.2	INSL3 LGR8-GREAT	219050	146738 606655
Dystrophia myotonica (DM-1)	19q13.2–q13.3	DMPK	160900	605377
Fragile-X- (FRAXA-)Syndrom	Xq27.3	FMR-1	309550	309550
Globozoospermie	6q21	CAL/GOPC	102530	606845
	6p13.3-2	CSNK2A2		115442
Gorlin-Syndrom (PPS)	1q32	Unbekannt	119500	Unbekannt
Kallmann-1- (X-linked)Anosomie	Xp22.3	KAL-1	308700	308700
Kallmann 2 (dominant)	8p11–12	FGFR1	147950	136350
Kallmann 3 (rezessiv)	Unbekannt	Unbekannt	244200	Unbekannt
Kartagener-Syndrom	5p15-p14	DNAH5	244400	603335
	7p21	DNAH11		603339
	9p21-p13	DNAH1		604366
McKusick-Kaufman (MKKS)	20p12	MKKS	236700	604896
Mitochondriales DNA-Bruch-Syndrom	15q25	POLG	157640	174763
Noonan-Syndrom (NS1)	12q24.1	PTPN11	163950	176876
Prader-Willi-Syndrom (PWS)	15q11–13	SNRPN	176270	182279
		Necidin	176270	602117
Rothmund-Thomson-Syndrom (RTS)	8q24.3	RECQL4	268400	603780
Stein-Leventhal-Syndrom (PCO)	15q23–24	CYP11A	184700	118485
Werner-Syndrom (WRN)	8p12-p11.2	RECQL2	277700	604611
Wilms-Tumor; Denys-Drash-Syndrom	11p13	WT1	194080	194080

^aDer klinische Phänotyp dieser Syndrome mit potenzieller männlicher Infertilität und ihre möglichen Vererbungswege werden beschrieben in: Victor McKusicks's „Mendelian Inheritance in Man (MIM)“ bzw. online (OMIM) unter den angegebenen OMIM-Referenznummern.

^bZur Kartierung der Gene in den verschiedenen AZF-Regionen, AZFa, AZFb, AZFc, s. **Abb. 3**.

Syndroms spielen. Entsprechend findet sich in Spermatogonien nur die Expression des DBY-Proteins [15], während das USP9Y-Protein in Spermatiden exprimiert wird.

Die Analyse der Spermatogenesefunktion einzelner Gene in der AZFb- und AZFc-Region ist viel schwieriger, da genspezifische Deletionen noch fehlen und bestimmte Gene mit mehreren funktionellen Kopien in diesen Abschnitten vorliegen (**Abb. 3**). Für eine vertiefende Betrachtung dieser genetischen Komplexität sei auf spezifische Übersichtsartikel verwiesen [11, 16, 17].

Kürzlich konnten verschiedene Y-Haplogruppen mit großer Variabilität in AZFc und auch in AZFb identifiziert werden [18, 19]. Die publizierte genomische Y-Sequenz (http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/mapview?chr=Y) wird danach der Y-Haplogruppe R* zugeordnet. In anderen Y-Haplogruppen, wie z. B. D2b, F(xH,K), I und N, finden sich variable Zahlen der Gene von AZFb und AZFc auch bei fertilen Männern [20, 21, 22, 23]. Demnach ist nicht klar, welche Gene dieser polymorphen AZFb/c-Abschnitte nun wirklich für eine intakte Spermatogenese essenziell sind bzw. welche Gendeletionen

neutral sind oder nur zur genetischen Balancierung und damit Sicherstellung der männlichen Fortpflanzung in der Weltbevölkerung dienen [18, 24].

Bewirkt die Transmission von AZFc-Deletionen durch ICSI Gonadendysgenesien?

Die Transmissionsrate von AZFc-Deletionen durch ICSI beträgt übereinstimmend in zahlreichen Arbeiten 100% und führt so zu Unfruchtbarkeit bei männlichen Nachkommen von infertilen Vätern mit kompletter AZFc-Deletion. Weniger bekannt ist das Risiko für diese Nachkommen für verschiedene Formen gonadaler Dysgenesien. Untersuchungen zeigen, dass der vollständige Verlust des Y-Chromosoms während der Embryonalzeit mit der Ausbildung von Xo-Zellen durch eine AZFc-Deletion als Permutation verursacht werden kann [25, 26]. In einem Case-Report wurde bei einem Mann mit gemischtem Genitale und 45,X/46,XY-Mosaikkaryotyp eine begleitende AZFc-Deletion im Y-Chromosom festgestellt [27]. Bei 12 Patienten mit 45,X/46,XY-Karyotyp, Turner-Stigmata und gemischt geschlechtlichem Phänotyp fand sich ebenfalls ein hoher Anteil von AZFc-Deletionen [28].

In einer internationalen Nachuntersuchung von Kindern mit der pränatalen Diagnose eines 45,X/46,XY-Mosaiks zeigte sich ein breites Spektrum verschiedener Phänotypen einschließlich Turner-Syndrom, gemischte Gonadendysgenese, männlicher Pseudohermaphroditismus, leichte mentale Retardierung, Autismus, aber auch unauffälliger Jungen [29]. Es sollte deshalb überlegt werden, ob Frauen von Partnern mit AZFc-Mikrodeletion – aufgrund der Möglichkeit von 45,X/46,XY-Mosaiken in ihren männlichen Nachkommen – zur pränatalen oder sogar präimplantatorischen Diagnostik geraten werden sollte.

Einzelndefekte bei subfertilen Männern

Funktionelle Störungen männlicher Fertilitätsgene, die nicht so häufigen Deletionen oder strukturellen Veränderungen wie die AZF-Gene unterliegen, werden meist erst nach aufwendigen Mutationsanalysen ih-

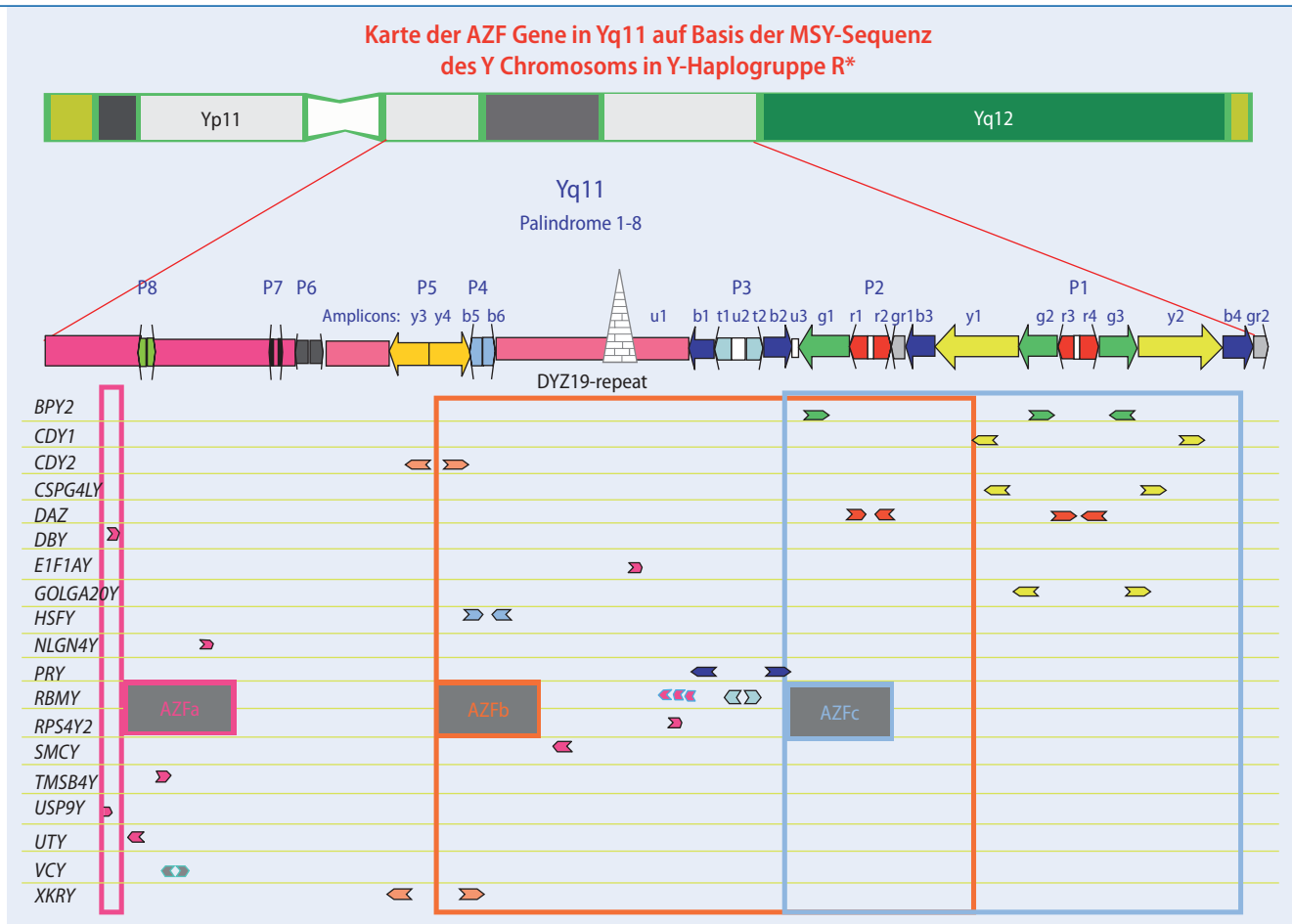


Abb. 3 Schematische Kartierung der AZF-Gene in Yq11 auf Basis der MSY („male specific Y“) Sequenz des Y-Chromosoms in Haplogruppe R*. Die Lokalisierung der Palindrome P1–P8 in Yq11 und die schematische Ausdehnung der AZFb/c-Ampliconstrukturen ist in dem nun allgemein üblichen Farbcode [11] für die gesamte Yq11-Region dargestellt. Unterhalb dieser Strukturen sind Lage und 5'-3'Polarität aller proteinkodierenden Y-Gene in Yq11 alphabetisch aufgelistet. Der Farbcode der Genkarte entspricht dem Farbcode der Amplicons, wo diese Gene lokalisiert sind. Nur die *E1F1AY*-, *RPS4Y2*-, und *SMCY*-Gene und 2 Kopien der *RBM1*-Genfamilie befinden sich außerhalb der Ampliconblöcke. Die Y-Gene in den 3 AZF-Regionen: AZFa, AZFb, AZFc (AZF-Gene) sind durch 3 farbig verschieden markierte Rechtecke hervorgehoben

rer kompletten funktionellen Sequenz erfasst. Dementsprechend ist die Zahl dieser Pathologien erzeugenden Fertilitätsgene im Humangenom – außerhalb des Y-Chromosoms – noch klein (Tab. 1). Am besten bekannt sind Mutationen im Zystischen-Fibrose-Gen (*CFTR*), da diese bei Patienten mit obstruktiver Azoospermie durch Aplasie des Ductus deferens (CBAVD) häufig vorkommen [30]. Seltener sind Mutationen im *KAL-1*-Gen, was zum Kallmann-Syndrom führt [31] und im Androgenrezeptor- (*AR*-)Gen [32]. Androgenrezeptormutationen finden sich mehr bei einer Reihe klinischer Bilder, die unter der Bezeichnung „androgen insensitivity syndrome“ (AIS, testikuläre Feminisierung, Reifstein-Syndrom) zusammengefasst werden (Tab. 1).

Weniger geläufig sind dem Kliniker Mutationen in den Genen der FSH-

und LH-Rezeptoren (*FSHR/LHR*), die bei Mutation zu einem idiopathischen Hypo- oder hypergonadotropen Hypogonadismus- (IHH-) Syndrom führen [33, 34]. Mutationen in den *INSL3*- und *LGR8-GREAT*-Genen bewirken Kryptorchismus [35, 36], und (CAG-)Tripletvarianten des mitochondrialen DNA-Polymerase- (*POLG*-)Gens scheinen ebenfalls mit männlicher Infertilität assoziiert zu sein [37]. Polygene Vererbungsmuster werden für das Kartagener-Syndrom (KS) und für die Globozoospermie (GS) postuliert. Aufgrund ihrer klinischen Bedeutung sollen die Mutationen des *CFTR*-Gens, des *Kal-1*-Gens und des *AR*-Gens, die zu männlicher Subfertilität führen, näher beschrieben werden.

„Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator-“ (*CFTR*-)Gen

CFTR ist ein Gen auf dem langen Arm von Chromosom 7 (Abb. 4). Das kodierte *CFTR*-Protein dient als c-AMP-regulierter transmembraner Kanal für den Transport von Chloridionen in epithelialen Zellen [38]. *CFTR*-Genmutationen werden in 6 Klassen (I–VI) und 2 Hauptgruppen eingeteilt [39]:

- Die 1. Hauptgruppe umfasst Mutanten, bei denen das *CFTR*-Protein nicht an der Zelloberfläche akkumulieren kann (Klassen I, V und II).
- Die 2. Hauptgruppe beschreibt Mutanten, die zwar das *CFTR*-Protein an der Zelloberfläche exprimieren, aber aufgrund struktureller Störungen Chloridionen nicht einschleusen (Klasse IV).

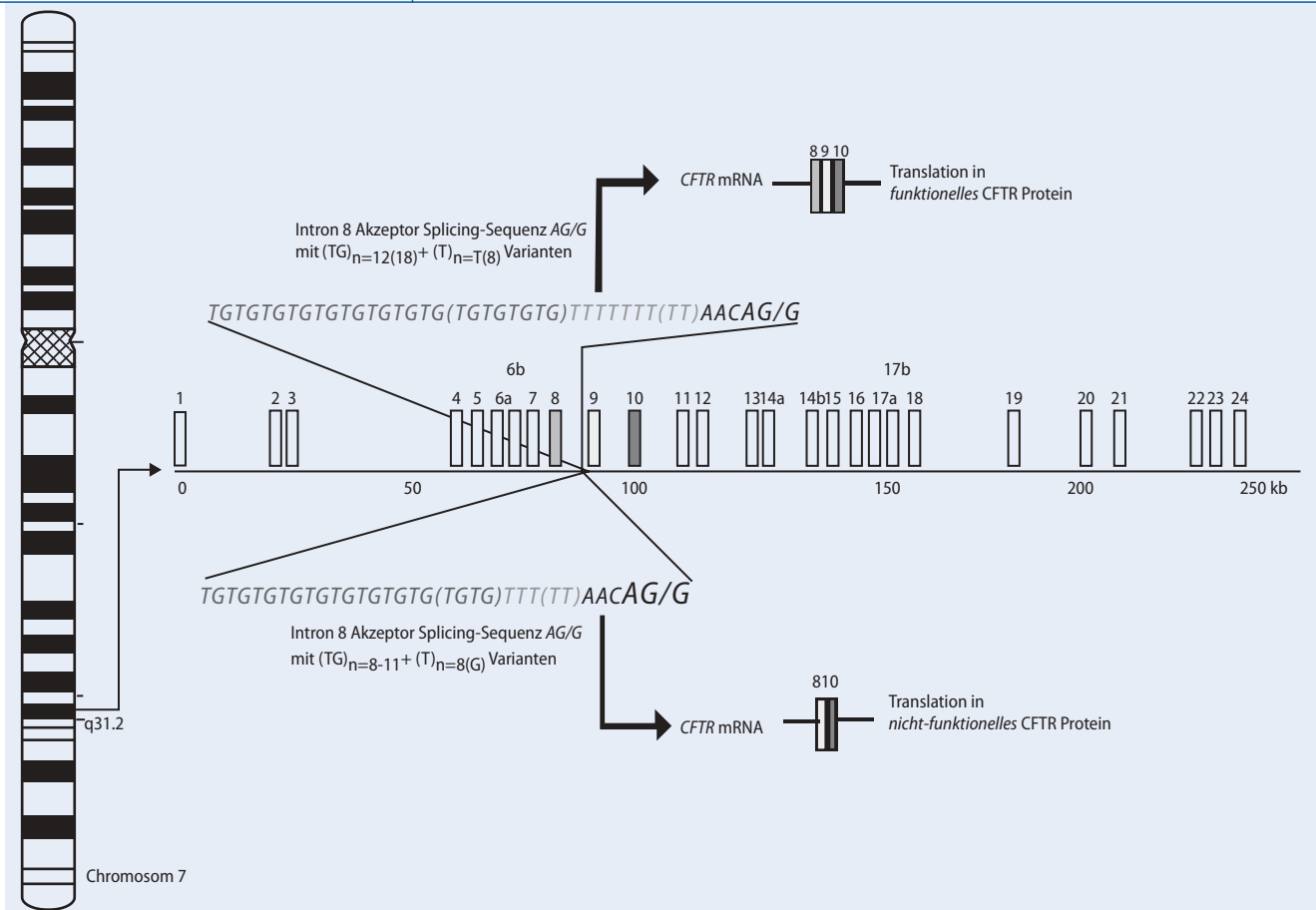


Abb. 4 ▲ Schematische Darstellung der Exonstruktur des humanen „Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator-“ (*CFTR*)-Gens auf dem langen Arm von Chromosom 7 (7q31.2). Die Zahl der TG+T-Nukleotide in Intron 8 ist variabel. Diese Variabilität kann in den Kombinationen, dargestellt unterhalb der Exonstruktur, zu einem Verlust von Exon 9 während des Splicing-Prozesses der *CFTR*-mRNA führen und damit nur ein nichtfunktionelles *CFTR*-Protein bei Translation erzeugen

CFTR-Klasse-VI-Mutanten sind unauffällig bezüglich der Chloridkanalfunktion, die Stabilität des reifen, glykolisierten *CFTR*-Proteins ist aber massiv verringert [40].

In der *CFTR*-Online-Datenbank (<http://www.genet.sickkids.on.ca/CFTR>) sind zurzeit 1005 pathologische *CFTR*-Mutationen und 208 Varianten registriert. Dies legt nahe, dass es Variabilitäten in der *CFTR*-Gensequenz gibt, die nicht zu einem Verlust des Chloridionentransports führen. Entsprechend kann der Schweregrad der CF-Pathologie bei gleicher Mutation in verschiedenen Familien unterschiedlich sein [39] und von schweren pulmonalen Krankheitsbildern bis zu „nur“ chronischen Bronchiektasen reichen [41]. Um eine vergleichbare Qualität der molekularen *CFTR*-Diagnostik für die in Europa frequent vorkommenden Mutationen zu gewährleisten, wurde ein europaweites externes Qualitätsmanagement in Belgien etabliert [42].

Die klinisch schwächer ausgeprägten *CFTR*-Mutationen führen häufig zu einer kongenitalen bilateralen Aplasie der Vasa deferentia (CBAVD; [43]). Es gibt auch *CFTR*-Mutationen, die ausschließlich zu CBAVD führen [44, 45]. Die meisten davon sind mit verschiedenen Sequenzvarianten (3T, 5T, 7T, 9T) in der 3'-Splicing-Region in Intron 8 assoziiert [43, 44]. Eine verringerte Anzahl von Ts reduziert die Splicing-Effektivität für Exon 9 in der *CFTR*-mRNA (■ **Abb. 4**).

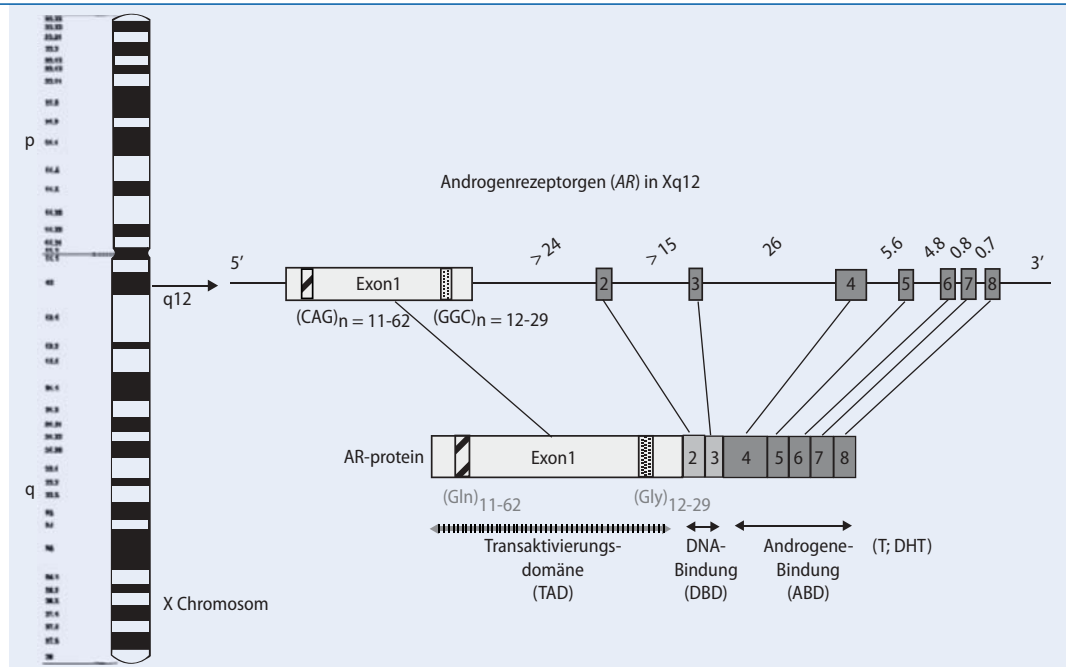
Eine sog. „Compound-Heterozygotie“ weisen 60% der CBAVD-Männer mit heterozygoter Mutation im *CFTR*-Gen auf, d. h., es finden sich verschiedene Mutationen in den beiden Genkopien [45]. Compound-Heterozygotie mit einem 5T-Allel in einer Genkopie und einer R117H- (d. h. Arginin wird zu Histidin in Position 117) Mutation in Exon 4 der 2. Genkopie zeigen einen schweren CF-Phänotyp, während mit dem 7T-Allel allein nur eine CBAVD diagnostiziert wird [43].

Kallmann-1- (*KAL-1*)-Gen

Das Kallmann-Syndrom ist die häufigste X-chromosomale Störung, die mit männlicher Unfruchtbarkeit assoziiert ist. Es ist genetisch sehr heterogen, sodass Genotyp-Phänotyp-Korrelationen oft schwierig sind [31]. Der *KAL-1*-Genlocus liegt auf dem kurzen Arm des X-Chromosoms [46]. Das entsprechende Protein, genannt Anosmin-1, steuert die Migration der GnRH-Neuronen und der olfaktorischen Nerven zum Hypothalamus.

KAL-1-Mutationen äußern sich klinisch typischerweise in der Kombination aus hypogonadotropem Hypogonadismus und Anosmie. Da dieser Phänotyp häufiger bei Männern (1:10.000) als bei Frauen (1:50.000) anzutreffen ist, wurde ein X-chromosomaler Erbgang postuliert (*KAL-1*). Daneben sind aber auch dominante (*KAL-2*) und autosomal rezessive (*KAL-3*) Erbgänge beschrieben worden (■ **Tab. 1**).

Abb. 5 ▶ Schematische Darstellung der Exonstruktur des humanen Androgenrezeptor- (AR-)Gens in Xq12. Die Zahlen oberhalb der Exonstrukturen geben die Intronlängen des AR-Gens an. Die 3 funktionellen Domänen des AR-Proteins sind in verschiedenen Grautönen dargestellt. Das 1. Exon kodiert die Transaktivierungsdomäne (TAD) mit variabler Peptidlänge aufgrund der polymorphen Zahl von CAG- ($n=11-62$) und GGC-Triplets ($n=12-29$). Die DNA-Bindungsregion (DBD) für das AR-Protein liegt in Exon 2 und 3, die Androgenbindungsregion (ABD) in Exon 4-8



Androgenrezeptor- (AR-)Gen

Der Androgenrezeptor gehört zu der großen Gruppe intrazellulärer Steroidrezeptoren, die erst nach Bindung an ihre Liganden aktiv werden. Nach der Ligandenbindung wandern sie zum Kern und binden an spezifische DNA-Sequenzen. So bindet das AR-Protein nach Dimerisierung an palindromische DNA-Elemente mit der Sequenz „-5'-TGTTCCT-NNN-AGAACA-3'-“, auch ARE („androgen responsive element“) genannt. Über mehrere nukleäre Koaktivatoren fördert der AR-Transkriptionsfaktor die Transkription zahlreicher Zielgene spezifisch im Gonadengewebe. Die mit AR interagierenden Proteine sind im Verzeichnis <http://ww2.mcgill.ca/androgendb/ARinteract.pdf> aufgelistet. Wichtige Liganden des AR sind die Androgene Testosteron (T) und Dihydrotestosteron (DHT). Die Produktion von Testosteron setzt in der 8. Schwangerschaftswoche in den fetalen Leydig-Zellen ein und initiiert die Entwicklung der männlichen Gonade aus den Wolff-Gängen einschließlich der Ausbildung des Epididymis, des Vas deferens und der Samenbläschen. Für die Ausbildung des externen Genitales ist Dihydrotestosteron (DHT) erforderlich, das durch Konversion über das Enzym „Steroid 5 α -reductase 2“ (SRD5A2) aus Testosteron entsteht. Das AR-Gen wird zu verschiedenen Phasen in den Sertoli-Zellen exprimiert [47], was seine Schlüsselfunktion bei der Entwicklung

der männlichen Gonade und der männlichen Keimzellentwicklung unterstreicht.

Die lange N-terminale Peptiddomäne [555aa (Aminosäuren); **Abb. 5**], kodiert von Exon 1, dient als Transaktivierungsdomäne (TAD), d.h. sie moduliert die Transkriptionsaktivität der AR-abhängigen Gene über die Bindungsfähigkeit spezifischer Kofaktoren. Die Exone 2-3 kodieren die „DNA binding (DBD) peptide“-Domäne (557-616aa) und die Exone 4-8 die C-terminale Peptiddomäne (664-915aa), die für die Bindungsaktivität des AR zu den Androgenen verantwortlich ist (**Abb. 5**). Die TAD-Region hat variable Längen in Abhängigkeit der Anzahl von (CAG)- und (GGC-)Tripletts in Exon 1. Wenige CAG-Triplets verstärken, viele schwächen die AR-Aktivität [48]. Es wird vermutet, dass eine zu niedrige AR-Aktivität auch die Spermatogenese stören kann [49]. Allerdings konnten in einer großen Studie mit 600 fertilen und 674 infertilen Männern keine signifikanten Unterschiede in der Anzahl der CAG-Triplets gefunden werden [50]. Dies wurde in weiteren Studien an 119 infertilen Männern kaukasischer Abstammung [51] und an 280 indischen Männern bestätigt [52].

In diesem Zusammenhang ist bemerkenswert, dass CAG-Triplettlängen von mehr als 38 nicht mit männlicher Infertilität, sondern mit einer schweren neurodegenerativen Erkrankung, der spinal bulbären Muskelatrophie (SBMA; „Ken-

nedy syndrome“: OMIM-ref: 313200) verbunden sind [53].

Bisher sind mehr als 300 Punktmutationen im AR-Gen beschrieben worden (<http://ww2.mcgill.ca/androgendb/AR23C.pdf>), wovon die meisten nicht mit einer spezifischen Pathologie verbunden sind. Es findet sich vielmehr eine Vielfalt von Pathologien, die sich von der testikulären Feminisierung (TFM-Syndrom) bis zu ausschließlich männlicher Unfruchtbarkeit mit einem nur milden „Androgen-Insensitivität-Syndrom“ (MAIS) beschreiben lassen. Diese große Variabilität beruht auf den quantitativ unterschiedlich ausgeprägten Fähigkeiten der ABD-Region des AR-Proteins, Androgene zu binden [32]. Eine Mutationsanalyse des AR-Gens kommt daher für alle Patienten mit männlicher Unfruchtbarkeit und einem milden Androgenresistenzsyndrom wie das Rosewater-Syndrom oder das Reifenstein-Syndrom (OMIM-ref. 312100, 312300) in Betracht.

Imprintingdefekte als Ursache der andrologischen Subfertilität

Der allgemeinen Rolle von Imprintingdefekten in der Reproduktionsmedizin ist in diesem Heft ein eigener Beitrag gewidmet. Ergänzend und bezogen auf die genetischen Grundlagen andrologischer Subfertilität, belegen erste Daten, dass eine Ursache schwerer Oligozoospermie oder Azoospermie auch durch die Veränderung des epige-

netischen Aktivitätsstatus paternal „geprägter“ („imprinted“) Gene hervorgerufen werden kann [54, 55]. Dies würde bedeuten, dass neben chromosomalen Veränderungen und molekulargenetischen Genmutationen auch der epigenetische Status, d. h. die spezifische Methylierung in den regulativen Promoterdomänen paternal oder maternal „geprägter“ Gene bei Männern mit verringerter Fertilität ursächlich sein kann. In der männlichen Keimzellentwicklung ist das Prägungsmuster paternal und maternal aktiver Gene normalerweise bereits vor der Meiose während der Entwicklung der Spermatozoen und Spermatozyten festgelegt. Demnach sollten sich in reifen, postmeiotischen Spermien nur die normalen Prägungsmuster epigenetisch kontrollierter Gene finden. Überraschenderweise findet sich aber in der Promoterdomäne des paternal geprägten H19-Gens bei Männern mit schwerer Oligozoospermie ein variables Methylierungsmuster in der H19-CpG-Domäne, das bei fertilen Männern nicht nachgewiesen werden kann [53, 54]. Wie diese Variabilität zustande kommt, ist derzeit unklar. Es wird vermutet, dass die Aktivität der keimzellspezifischen DNA-Methylase DNMT3L oder der De-novo-Methylase DNMT3A [56, 57] bei diesen Patienten in der Keimbahn reduziert ist.

Ausblick

Das Gesamtmuster heterozygoter Mutationen eines individuellen Genoms wird „individuelle spezifische Heterozygotie“ oder „genetic load factor“ genannt. Man kann annehmen, dass genetisch bedingte andrologische Subfertilität auch ein sichtbarer Ausdruck (d. h. Phänotyp) eines zu hohen „load factors“ ist. Dies kann, muss aber nicht durch chromosomale Aberrationen, interstitielle Deletionen, Einzelgendifekte oder Imprintingdefekte sichtbar werden. Sind die primären, durch Mutationen verursachten zellulären Defekte nicht in allen Zellsystemen gleich, spricht man auch von „pleiotropen“ Gendefekten. Den Humangenetiker überrascht daher nicht, wenn der gleiche Gendefekt in verschiedenen Zellsystemen unterschiedliche Pathologien verursacht, wie in diesem Beitrag für das *AR*- und das *CFTR*-Gen gezeigt. Auch wird dann verständlich, dass sich bei einem Elternpaar, bei dem die an-

drologische Subfertilität als einzige Pathologie imponiert, sich assoziierte pleiotrope somatische Pathologien erst bei den Nachkommen zeigen mögen. Um diese komplexen genetischen Ursachen männlicher Subfertilität besser zu verstehen, ist weitere intensive Grundlagenforschung vonnöten, bevor wir mit höherer Zuverlässigkeit beurteilen können, welche genetischen Veränderungen bei den Nachkommen wiederum „nur“ zu Infertilität führen und welche davon das Risiko bergen, auch weitere somatische Erkrankungen in den Nachkommen auslösen zu können.

Korrespondierender Autor

PD Dr. P. H. Vogt

Sektion Molekulare Genetik und Fertilitätsstörungen, Abteilung Gynäkologische Endokrinologie und Fertilitätsstörungen, Universitätsklinikum Heidelberg
Voßstraße 9, 69115 Heidelberg
peter_vogt@med.uni-heidelberg.de

Interessenkonflikt. Es besteht kein Interessenkonflikt. Der korrespondierende Autor versichert, dass keine Verbindungen mit einer Firma, deren Produkt in dem Artikel genannt ist, oder einer Firma, die ein Konkurrenzprodukt vertreibt, bestehen. Die Präsentation des Themas ist unabhängig und die Darstellung der Inhalte produktneutral.

Literatur (Auswahl)

1. Van Assche E, Bonduelle M, Tournaye H et al. (1996) Cytogenetics of infertile men. *Hum Reprod*; 11: 1–24
2. Egozcue S, Blanco J, Vendrell JM et al. (2000) Human male infertility: chromosome anomalies, meiotic disorders, abnormal spermatozoa and recurrent abortion. *Hum Reprod* 6: 93–105
3. Samli H, Samli MM, Solak M, Imrzioglu N. (2006) Genetic anomalies detected in patients with non-obstructive azoospermia and oligozoospermia. *Arch Androl* 52: 263–267
4. Faraut T, Mermet MA, Demongeot J, Cohen O. (2000) Cooperation of selection and meiotic mechanisms in the production of imbalances in reciprocal translocations. *Cytogenet Cell Genet* 88: 15–21
5. Pang MG, Hoegerman SF, Cuticchia AJ et al. (1999) Detection of aneuploidy for chromosomes 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 17, 18, 21, X, and Y by fluorescence in-situ hybridization in spermatozoa from nine patients with oligoasthenoatozoospermia undergoing intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 14: 1266–1273
6. Eils R, Uhrig S, Saracoglu K et al. (1998) An optimized fully automated system for fast and accurate identification of chromosomal rearrangements by multiplex-FISH (M-FISH). *Cytogenet Cell Genet* 82: 160–171
7. Bonduelle M, Van Assche E, Joris H et al. (2002) Prenatal testing in ICSI pregnancies: incidence of chromosomal anomalies in 1586 karyotypes and relation to sperm parameters. *Hum Reprod* 17: 2600–2614
8. Mihar N (2005) Chromosome abnormalities in sperm from infertile men with normal somatic karyotypes: oligozoospermia. *Cytogenet Genome Res* 111: 347–351
9. Shi Q, Martin RH (2001) Aneuploidy in human spermatozoa: FISH analysis in men with constitutional chromosomal abnormalities and in infertile men. *Reproduction* 121: 655–666

10. Vogt PH (2005) Azoospermia factor (AZF) in Yq11: towards a molecular understanding of its function for human male fertility and spermatogenesis. *Reprod Biomed Online* 10: 81–93
11. Krausz C, Degl'Innocenti S (2006) Y chromosome and male infertility: update. *Front Biosci* 11: 3049–3061
12. Foresta C, Ferlin A, Moro E (2000) Deletion and expression analysis of AZFa genes on the human Y chromosome revealed a major role for DBY in male infertility. *Hum Mol Genet* 9: 1161–1169
13. Jobling MA, Tyler-Smith C (2003) The human Y chromosome: an evolutionary marker comes of age. *Nat Rev Genet* 4: 598–612
14. Quintana-Murci L, Krausz C, Heyer E et al. (2001) The relationship between Y chromosome DNA haplotypes and Y chromosome deletions leading to male infertility. *Hum Genet* 108: 55–58
15. Siffroi JP, Bourhis C, Krausz C et al. (2000) Sex chromosome mosaicism in males carrying Y chromosome long arm deletions. *Hum Reprod* 15: 2559–2562
16. Patsalis PC, Sismani C, Quintana-Murci L et al. (2002) Effects of transmission of Y chromosome AZFc deletions. *Lancet* 360: 1222–1224
17. Chang HJ, Clark RD, Bachman H (1990) The phenotype of 45X/46XY mosaicism: an analysis of 92 prenatally diagnosed cases. *Am J Hum Genet* 46: 156–167
18. Oates RD, Amos JA (2001) The genetic basis of congenital bilateral absence of the vas deferens and cystic fibrosis. *J Androl* 15: 1–8
19. Quinton R, Duke VM, de Zoysa PA et al. (1996) The neuroradiology of Kallmann's syndrome: a genotypic and phenotypic analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 81: 3010–3017
20. Gottlieb B, Lombroso R, Beitel LK et al. (2005) Molecular pathology of the androgen receptor in male (in) fertility. *Reprod Biomed Online* 10: 42–48
21. Estivill X (1996) Complexity in a monogenic disease. *Nature Genet* 12: 348–350
22. Dequeker E, Cuppens H, Dodge J et al. (2000) Recommendations for quality improvement in genetic testing for cystic fibrosis. European Concerted Action on Cystic Fibrosis. *Eur J Hum Genet* 8: 2–24
23. Kiesewetter S, Macek M Jr, Davis C et al. (1993) A mutation in CFTR produces different phenotypes depending on chromosomal background. *Nat Genet* 5: 274–278
24. Patrizio P, Asch RH, Handelin B, Silber SJ (1993) Aetiology of congenital absence of vas deferens: genetic study of three generations. *Hum Reprod* 8: 215–220
25. Suarez-Quian CA, Martinez-Garcia F, Nistal M, Regadera J (1999) Androgen receptor distribution in adult human testis. *J Clin Endocrinol Metab* 84: 350–358
26. Hiort O, Holterhus P-M (2003) Androgen insensitivity and male infertility. *Int J Androl* 26: 16–20
27. Rajpert-De Meyts E, Leffers H, Petersen JH et al. (2002) CAG repeat length in androgen-receptor gene and reproductive variables in fertile and infertile men. *Lancet* 5: 44–46
28. Marques CJ, Carvalho F, Sousa M, Barros A (2004) Genomic imprinting in disruptive spermatogenesis. *Lancet* 363: 1700–1702
29. Marques CJ, Sousa S, Fernandes S et al. (2006) Epigenetic status of imprinted genes in human testicular spermatozoa. *Hum Reprod* 21 [Suppl 1]: i199
30. Hata K, Kusumi M, Yokomine T et al. (2006) Meiotic and epigenetic aberrations in Dnmt3L-deficient male germ cells. *Mol Reprod Dev* 73: 116–122
31. Vidal F, Navarro J, Templado C et al. (1984) Synaptonemal complex studies in a mosaic 46,XY/47,XXY male. *Hum Genet* 66: 306–308

Das vollständige Literaturliste ...

... finden Sie in der elektronischen Version dieses Beitrags unter www.GynaekologischeEndokrinologie.de