

Klinische Andrologie

Zur Einführung

Der Begriff „Andrologie“ wurde vor etwa 100 Jahren eingeführt, um ein Fach bezeichnen zu können, das sich speziell mit den männlichen Genitalorganen als Pendant zur Gynäkologie beschäftigt. In Deutschland verstand man unter Andrologie vorwiegend eine Fertilitätsheilkunde des Mannes, die in eine enge interdisziplinäre Zusammenarbeit eingebunden ist. Darum ist die Feststellung von Jordan und Niemann aus dem Jahre 1969 (10) auch heute noch voll gültig: „Die Andrologie gedeiht nicht für sich allein, sie wächst am besten in enger Zusammenarbeit mit der Gynäkologie“. Dermatologen und Urologen haben sich im wesentlichen mit der andrologischen Problematik beschäftigt. Die Laboruntersuchungen, konservative Diagnostik und konservative Therapie wurden hauptsächlich von Dermatologen und die invasive Diagnostik und operativen Therapieverfahren im wesentlichen von Urologen durchgeführt. Beide Fächer haben auch als einzige die Andrologie in ihrer Weiterbildungsordnung verankert. Der Erkenntniszuwachs und die zunehmende Kompliziertheit der Betreuung infertiler Paare und Patienten legt die Bildung von interdisziplinären Zentren nahe, insbesondere an den Universitäten. Die andrologische Diagnostik beginnt mit der Anamnese und der klinischen Untersuchung des Patienten. Diese Feststellung ist eigentlich eine Selbstverständlichkeit, die aber leider zunehmend vernachlässigt wird. Es ist die gefährliche Tendenz zu beobachten, den andrologischen Patienten nur auf den Lieferanten einer Spermprobe zu reduzieren und unter Andrologie nur die Spermologie zu verstehen. Die Anamnese und klinischen Daten erlauben oft erst die richtige Interpretation der Ergebnisse der Ejakulatanalyse. Es gehört aus dermatologischer und urologischer Sicht mehr als ein Spermogramm zur Fertilitätsdiagnostik: Störungen der Sexualfunktionen, männliche Kontrazeption, Entzündungen der männlichen Adnaxen, Krankheiten der männlichen Brustdrüse u. a. In Sachsen besteht dazu ein breiter Konsens der beteiligten Fächer, der sich nicht zuletzt in einer traditionell guten interdisziplinären Zusammenarbeit widerspiegelt.

I. Solide Fertilitätsdiagnostik umfaßt nicht nur das Spermogramm

Zusammenfassung

Die Fertilität des Mannes setzt eine normale Spermatogenese, einen ungestörten Samentransport und eine intakte Sexualfunktion voraus. Die Untersuchung der Zeugungsfähigkeit umfaßt deshalb neben einer Ejakulatanalyse eine detaillierte Anamnese, die klinischen sowie endokrinen, mikrobiologischen, ultrasonographischen und histologischen Untersuchungen. Die Frage nach den Labormethoden zur Einschätzung der männlichen Fertilität muß unter Bezugnahme auf die spermologischen Voraussetzungen der Eizellfertilisierung in vivo beantwortet werden: Es werden motile, normomorphe Spermien mit intakter Membranstruktur und -funktion benötigt, die in der Lage sind, die Eizelle zu erreichen, an Eizellstrukturen zu binden, die Eizelhülle zu penetrieren und mit dem haploiden Chromosomensatz eine normale Embryogenese zu induzieren. Die in vitro-Spermadiagnostik repräsentiert im wesentlichen Spermienfunktionstests, die in vitro Labormodelle von Teilschritten des Fertilisierungsprozesses in vivo darstellen. Das Spermogramm ist dabei nur der erste Schritt mit dem Charakter einer Screening-Untersuchung. Eine Reihe von ergänzenden Labormethoden trägt dazu bei, die Sterilitätsursachen zu erkennen und einen Strategieplan innerhalb der Infertilitätstherapie zu erarbeiten. Die Methoden umfassen dabei Tests zur Prüfung der Membranintegrität, der Zervixmukus-Penetration, des Akrosomenstatus, der Induktion der Akrosomenreaktion, der Akrosinaktivität, der Spermien-DNS-Integrität, Spermien-Nukleoproteine u. a. Die Interpretation der Ergebnisse muß immer komplex und im Zusammenhang mit klinischen und endokrinen Daten erfolgen.

Eine repräsentative Studie führte in jüngster Zeit zu der Erkenntnis, daß 17,2 % (= 1,17 Millionen) der deutschen Paare ungewollt kinderlos sind (2). Bei über einem Drittel dieser Paare ist die Sterilität androgen bedingt oder mitbedingt. Für diese Paare haben sich in jüngster Zeit neue Perspektiven auf dem Gebiet der in vitro-Diagnostik und -Therapie eröffnet. Die

Aus dem Universitätsklinikum
Leipzig, Zentrum für Andrologie,
Dermatologische Klinik¹
und Urologische Klinik

Verlagerung von Prozessen der Oozyten-Fertilisierung in in vitro-Systeme hat einerseits die fundamentalen Erkenntnissen über die zellulären und molekularen Mechanismen der Fertilisierung geführt und andererseits die therapeutischen Möglichkeiten für den infertilen Mann erweitert. Die neuen labortechnischen Methoden stellen aber auch eine Herausforderung für das andrologische Labor dar. Es ergibt sich für die Andrologie die Notwendigkeit, moderne Tests zur Evaluierung der Spermienfunktionen zu beherrschen und die Methoden der Sperma-Aufbereitung zu praktizieren. Weiterhin wird die Andrologie mit der Aufgabe konfrontiert, die Patienten über die Chancen und Risiken assistierter Fertilisierungstechniken kompetent zu beraten. Grundlage für die andrologische Betreuung des Patienten mit ungeklärter Infertilität ist jedoch die Einschätzung seiner Fertilitätschance anhand detaillierter Spermienfunktionstests. Die Tests müssen jedoch immer in Zusammenhang mit der Anamnese, der klinischen andrologischen Untersuchung und den Ergebnissen der endokrinen Diagnostik (insbesondere der Basiskonzentration des Follikelstimulierenden Hormons, FSH) beurteilt werden.

In vitro-Spermadiagnostik (Spermien-Funktionstests)

Die in vitro-Spermadiagnostik repräsentiert im wesentlichen Spermienfunktionstests, die in vitro Labormodelle von Teilschritten des Fertilisierungsprozesses in vivo darstellen (Abb. 1). Diese Untersuchungen sollen die Frage beantworten, ob und in welchem Umfang die jeweilige Spermprobe über Spermien verfügt, die alle Voraussetzungen für eine Oozytenfertilisierung erfüllen. Da bisher kein Einzelkriterium die Spermien-Fertilitätskapazität charakterisieren kann, ist ein Spektrum von Labormethoden erforderlich, wobei das Einzelergebnis nur über eine Etappe des Fertilisierungsvorgangs Auskunft gibt. Der Fertilisierungsprozeß untergliedert sich in verschiedene Einzelschritte, deren Absolvierbarkeit durch die Spermien anhand *mehrerer* Methoden geprüft werden muß. Das Spermogramm stellt lediglich die Basis jeglicher Fertilitätsdiagnostik dar, wobei ein normales Spermogramm nicht mit einer uneinge-

<u>Fertilisierungsprozeß</u>	<u>Labordiagnostik</u>
Vitale progressiv motile Spermien	⇒ Spermogramm und Tests zur Membranintegrität
↓	
Passage der Cervix uteri	⇒ Zervixmukus-Penetrationstest
↓	
Spermienmigration zu den Tubae uterinae	⇒ Langzeit-Motilität und swim up-Technik
↓	
Spermienkapazität	⇒ Spermien-Hypermotilität in der Computer-assistierten Motilitätsanalyse
↓	
Akrosomenreaktion	⇒ Spermien-Fluoreszenzmuster nach Inkubation mit FITC-konjugierten Lektinen
↓	
Penetration durch Cumulus oophorus und Corona radiata	⇒ Bestimmung der Aktivität akrosomaler Proteasen
↓	
Adhäsion an und Penetration der Zona pellucida	⇒ Bestimmung der Protease Akrosin
↓	
Adhäsion und Penetration des Oolemm	⇒ Spermien-Adhäsionsmoleküle (?)
↓	
Gametenverschmelzung und Induktion der Embryogenese	⇒ Nukleoproteinreife und intakte Doppelstrang-DNS

Abb. 1 Der Fertilisierungsprozeß und seine spermio-logische in vitro Diagnostik

schränkten Fertilität gleichzusetzen ist. Das Spermogramm erfaßt die drei klassischen Variablen Spermien-Konzentration, Prozentanteil normomorpher und progressiv motiler Spermien neben Volumen, pH und Spermiovitalität. Für eine exakte Einschätzung der Zeugungsfähigkeit ist das Spermogramm ein zu grobes Raster. Daraus resultiert die Notwendigkeit erweiterter und detaillierter Testungen. Die Frage nach weiteren Labormethoden zur Einschätzung der männlichen Fertilität muß unter Bezugnahme auf die spermio-logischen Voraussetzungen der Eizellfertilisierung in vivo beantwortet werden: Es werden motile, normomorphe Spermien mit intakter Membranstruktur und -funktion benötigt, die in der Lage sind, die Eizelle zu erreichen, an Eizellstrukturen zu binden, die Eizelhülle zu penetrieren und mit dem haploiden Chromosomensatz eine normale Embryogenese zu induzieren. Im einzelnen sind folgende Spermienfunktionen von Interesse:

Membranintegrität

Wichtiges Kriterium der Fertilitätskapazität menschlicher Spermien stellt die Integrität der Spermien-Zytoplasmamembran dar. Hinweise darauf geben morphologische Spermienveränderungen (5) und der Motilitätsabfall im hypoosmolaren Milieu sowie der Kryotoleranztest (8).

Zervixmukus-Penetrationstest

Die Zervixmukus-Penetrationstests erlauben Rückschlüsse auf die Fähigkeit der Spermien, die Zervixbarriere zu überwinden. Das Prinzip besteht in einer Beurteilung der aktiv in den Mukus eingewanderten Spermien (Wegstrecke und Anzahl), entweder an einer Mukus-Sperma-Grenzfläche auf dem Objektträger oder in einer mukusgefüllten Glaskapillare. Um standardisiert allein die spermio-logische Situation bewerten zu können, kann der Humanmukus durch andere Substanzen mit vergleichbaren rheologischen Eigenschaften, z. B. perioovulatorischer Rindermukus (15) oder Hühnereiweiß (1) ersetzt werden.

Spermien-Migrationsfähigkeit

Nach Überwinden der Zervixbarriere müssen die Spermien eine Migration bis zu den Tuben absolvieren. Auf dieses Migrationsverhalten kann indirekt durch das Motilitäts-Langzeitverhalten (zweite Motilitätsbestimmung in der Spermprobe nach 3 Stunden) oder besser anhand der Effizienz standardisierter „swim up“-Technik geschlossen werden. Bei letzterer Methode wird ein Zellkulturmedium mit Frischejakulat unterschichtet und inkubiert. Die absolute Zahl und die Motilität der Spermien im Medium ist dabei das Beurteilungskriterium.

Kapazitätierung

Während der Spermienmigration zu den Tuben findet die Kapazitätierung statt. Unter Kapazitätierung versteht man eine Serie von im Lichtmikroskop nicht erfaßbarer Spermienveränderungen, die zur Oozytenfertilisierung befähigen. Im wesentlichen beinhaltet sie eine Stoffwechselaktivierung und eine Membranlabilisierung. Sie kann in der andrologischen Laborroutine kaum erfaßt werden. Eine indirekte Möglichkeit des Kapazitäts-Monitoring besteht in der Ermittlung der Motilitäts-Hyperaktivierung einer mittels Computer assistierter video-mikrometrischer Spermien-Motilitätsanalyse (CASA = Computer aided sperm motion analysis).

Akrosomenreaktion

Die Akrosomenreaktion ist charakterisiert durch eine Fusion der Zytoplasmamembran mit der äußeren Akrosomenmembran. Dieser Vorgang hat eine „Vesikulation“ und schließlich das Verschwinden der fusionierten Membran zur Folge. Auf diese Weise werden die für die Penetration der Oozytenhüllen wichtigen Enzyme aus dem Akrosom, einer Lysosomenmodifikation, freigesetzt. Der Verlust der äußeren Akrosomenmembran (Akrosomenreaktion) kann durch Farbe- und Fluoreszenztechniken nachgewiesen werden. In der Praxis haben sich letztendlich zwei Methoden durchgesetzt: die Triple-stain-Technik (13), die gleichzeitig noch eine Unterscheidung zwischen vitalen und avitalen Spermien erlaubt und die Bindung von FITC konjugierten Lektinen, z. B. Pisum sativum Agglutinin, PSA (4): Eine noch vorhandene Akrosomenmatrix bindet dieses Lektin. Mit Hilfe des Fluoreszenzmusters der Spermien kann zwischen Spermien mit intaktem Akrosom, vitalen Spermien nach Akrosomenreaktion und avitalen Spermien mit degeneriertem Akrosom (falsche Akrosomenreaktion) unterschieden werden.

Durch Bestimmung der Akrosomenintegrität vor und nach einer in vitro-Induktion der Akrosomenreaktion kann die prinzipielle Fäh-

igkeit dieses Fertilisierungsteilschrittes im voraus geprüft werden. Die Akrosomenreaktion kann *in vitro* entweder durch den Einsatz des Ca^{2+} Ionophor A23187 (7), Follikelflüssigkeit oder einfacher durch die Kälteschockmethode (12) eingeleitet werden.

Akrosin-Bestimmung

Die Akrosomenreaktion setzt unter anderem das Enzym Akrosin (EC 3.4.21.10) frei. Es verursacht eine limitierte Proteolyse der Zona pellucida spezifischen Glykoproteine. Die *in vitro*-Aktivitätsbestimmung kann mit dem Gelatinolyseverfahren (11) oder anhand der hydrolytischen Spaltung von BANH (N-benzoylarginin-p-nitroanilinhydro-chlorid) erfolgen (9). Nach Überwinden aller Barrieren der Eizelle (Cumulus oophorus, Corona radiata, Zona pellucida und Oolemma) wird durch das haploide Genom des Spermiums die Embryogenese induziert.

Spermien-DNS-Komplexe

Eine normale Embryogenese setzt unter anderem normale Desoxyribonuklein-Protein-Komplexe voraus. Neben DNS-Bestimmungen der Spermien (chemisch oder flowzytometrisch) kann die Anilinblaufärbung von Spermaausstrichen als eine Screening-Methode zur Charakterisierung von Nukleoproteinen und der Chromatinkondensation angewendet werden (14). Anilinblau färbt lysinreiche Histone an. Während der Spermatogenese werden diese Histone aber durch die speziesspezifischeren Protamine ersetzt, die sogenannte Chromatinkondensation. Aus diesem Grund sind reife protaminreiche Spermien durch Anilinblau nicht anfärbbar. Als einfache Methode zur Bestimmung der Spermien-DNS-Integrität hat sich in den letzten Jahren die Akridinorange-Fluoreszenz durchgesetzt. Diese Technik erlaubt die Unterscheidung zwischen Spermien mit intakter Doppelstrang-DNS und Spermien mit denaturierter Einzelstrang-DNS (3,6).

Anti-Spermien-Antikörper

Spermien-Agglutinationen weisen auf Immunreaktionen gegenüber Spermien hin. Es muß dabei jedoch zwischen im Seminalplasma zirkulierenden und auf der Spermienoberfläche gebundenen Antikörpern unterschieden werden. Nur letzteren ist eine fertilitätsrelevante Funktion in Abhängigkeit vom Titer zuzuordnen. Diese Antikörper (Klasse IgG und IgA) sind in der Regel die Folge eines Kontaktes zwischen Spermatogenezellen und dem immunkompetenten System infolge einer Störung der Blut-Hoden-Schranke.

Infektionen des Urogenitalsystems

Bei klinischen Zeichen der Genitalentzündungen und Entzündungszeichen im Ejakulat (pathologische Leukozytenkonzentrationen, normal: $< 1 \text{ Mio/ml}$) oder erhöhte Granulozytenelastase (normal: $< 250 \text{ ng/ml}$) ist eine Erregerdiagnostik und gezielte Behandlung angezeigt. Die Bedeutung von Mikroorganismen im Ejakulat ohne klinische Symptomatik oder Entzündungsmarker ist zwar noch umstritten. Überwiegend kristallisiert sich jedoch heraus, daß von Übertragung auf die Partnerin abgesehen, die stumme Keimbildung keine Relevanz für die Fertilität hat.

Histologische Hodenuntersuchung

Eine Hodenbiopsie und eine histologische Beurteilung des Hodengewebes wird angestrebt, wenn entweder eine auffällige Diskrepanz zwischen klinischem Bild, endokrinologischen Untersuchungsergebnissen und Spermaanalyse zu beobachten ist oder detaillierte Informationen zum Aufbau des Germinallepitels erforderlich sind, z. B. für die testikuläre Spermienextraktion (TESE) oder eine Verschlusazoospermie geklärt werden soll. Die Semidünnschnitt-Technik mit nur einer Zellschicht im Schnitt wird dabei zunehmend angewendet.

Marker der männlichen Adnexen

Die Spermienfunktionen werden unter anderem von den männlichen Adnexen beeinflusst beziehungsweise modifiziert. Aus diesem Grund sind Kenntnisse über diese Adnexfunktionen in speziellen Fällen wünschenswert. Diese Sekretionskapazitäten können anhand spezifischer Marker mit industriell hergestellten Kits indirekt beurteilt werden (Tab. 1).

Tabelle 1:
Biochemische Marker für Prostata, Samenbläschen und Nebenhodenfunktion

Adnexe	Marker	Normalwert (pro Ejakulat)
Prostata	Zinkionen	$> 2,4 \mu\text{mol}$
	Zitrat	$> 52 \mu\text{mol}$
Samenbläschen	Fruktose	$> 13 \mu\text{mol}$
Nebenhoden	freies L-Carnitin	$> 0,5 \mu\text{mol}$
	alpha-Glukosidase	$> 20 \text{ mE}$

Literatur beim Verfasser

Anschrift des Verfassers:
Prof. Dr. med. Hans-Jürgen Glander
Andrologische Arbeitsgruppe
Dermatologische Universitätsklinik Leipzig
Liebigstraße 21
04103 Leipzig

Artikel eingegangen: 11. 8. 1997

Artikel angenommen: 5. 9. 1997