

Journal für

Reproduktionsmedizin und Endokrinologie

– Journal of Reproductive Medicine and Endocrinology –

Andrologie • Embryologie & Biologie • Endokrinologie • Ethik & Recht • Genetik
Gynäkologie • Kontrazeption • Psychosomatik • Reproduktionsmedizin • Urologie

Genetisch bedingte Störungen der Spermienmotilität

Neesen J

J. Reproduktionsmed. Endokrinol 2004; 1 (3), 184-189

www.kup.at/repromedizin

Online-Datenbank mit Autoren- und Stichwortsuche

Offizielles Organ: AGRBM, BRZ, DIR, DVR, DGA, DGGEF, DGRM, EFA, OEGRM, SRBM/DGE

Indexed in EMBASE/Excerpta Medica

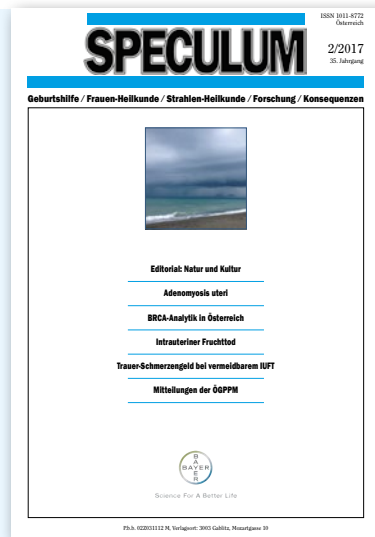
Member of the



Krause & Pachernegg GmbH, Verlag für Medizin und Wirtschaft, A-3003 Gablitz

Mitteilungen aus der Redaktion

Die meistgelesenen Artikel



Speculum

Journal für Reproduktionsmedizin und Endokrinologie



Genetisch bedingte Störungen der Spermienmotilität

J. Neesen

Das Spermatozoon der Säuger ist eine äußerst komplex aufgebaute bewegliche Zelle, die in Kopf und Flagelle unterteilt werden kann. Der Kopf enthält das genetische Material in einer stark kondensierten Form sowie das Akrosom, welches für die Penetration der weiblichen Eizelle benötigt wird. Die Flagelle erzeugt unter Verbrauch von Energie die Bewegung, die gewährleisten soll, daß das genetische Material des Vaters in die weibliche Eizelle gelangt. Störungen der Motilität der Spermatozoen bedingen in der Regel eine verminderte Fertilität. Bei etwa 30–40 % der infertilen Männer ist die Ursache für ihre Störung in einer Asthenozoospermie bzw. Oligoasthenozoospermie zu suchen. In der Mehrzahl der Fälle ist jedoch davon auszugehen, daß diesen Störungen keine genetischen Defekte zugrunde liegen. Wie hoch der Prozentsatz der infertilen Männer mit genetisch bedingten Störungen der Spermienmotilität ist, kann zur Zeit noch nicht angegeben werden. Während chromosomale Veränderungen bei Patienten mit Azoo- oder Oligozoospermie eine wichtige Ursache darstellen, werden sie bei Patienten mit Asthenozoospermie nur in Einzelfällen beobachtet. Bei ca. 1 % der infertilen Patienten werden strukturelle Störungen in allen Spermien gefunden. Hier kann angenommen werden, daß Mutationen in einzelnen Genen die Ursache sind. Neuere Untersuchungen belegen eine Verbindung von Sequenzvariationen in der mitochondrialen DNA und einer gestörten Spermienmotilität. Aber auch hier fehlen noch konkrete Angaben zur Häufigkeit. Die Identifizierung und funktionelle Analyse neuer, für die Spermienmotilität relevanter Gene in der Maus läßt hoffen, daß unser bisher noch unzureichendes Wissen zu den genetischen Ursachen der Asthenozoospermie in den nächsten Jahren erweitert wird.

Schlüsselwörter: Motilität, Spermienflagelle, Axonem, Asthenozoospermie, Tiermodell

Genetically Caused Disorders of Sperm Motility. The mammalian spermatozoon is a highly complex structured motile cell that consists of two parts, the head and the flagellum. The sperm head contains the highly condensed genome and the acrosomal cap which is essential for the penetration of the female egg. The flagellum generates under consumption of energy the motility, which is necessary to transport the male genetic information to the oocyte. Disruption of sperm motility results in reduced paternal fertility. In approximately 30–40 % of all infertile males their impaired fertility is due to astheno- or oligoasthenozoospermia. It can be assumed that in the main portion of these men the dysfunction is not caused by genetic factors. Moreover, to date it is unclear to which percentage male infertility is genetically based. Chromosomal aberrations that are an important reason for men suffering from azoospermia or oligozoospermia, are only found in rare cases of asthenozoospermic men. In approximately 1 % of all infertile men structural abnormalities are observed in the majority of their sperms, indicating that mutations in single genes could be the reason for the monomorphic sperm defect. In addition, new investigations suggest a connection between reduced sperm motility and polymorphic DNA sequences of the mitochondrial genome. However, exact information concerning the frequency of those alterations is still missing. The identification and molecular characterization of new genes in the mouse which are involved in the generation of sperm motility will increase our knowledge concerning the molecular basis of asthenozoospermia during the next years. **J Reproduktionsmed Endokrinol 2004; 1 (3): 184–9.**

Key words: Motility, sperm flagellum, axoneme, asthenozoospermia, animal model

Die Funktion des Spermatozoons besteht in der Befruchtung der Eizelle. Um die Eizelle erreichen und penetrieren zu können, ist das Spermatozoon mit einem beweglichen Organell, der Flagelle, ausgestattet. Die Säugerflagelle besteht aus mehr als 400 verschiedenen Proteinen. Ihre Kernstruktur bildet das Axonem (Abb. 1), das im Mittelstück der Flagelle von den äußeren Fibrillen (ODF) und der mitochondrialen Hülle umgeben ist und nach außen durch eine Plasmamembran abgeschlossen wird. Im Endstück wird das Axonem von der fibrillären Hülle (FS) umgeben. Das Axonem besteht aus etwa 250 verschiedenen Proteinen [1]. Dabei sind neun Mikrotubulusdubletten ringförmig um zwei einzelne zentrale Mikrotubuli (MT) angeordnet, die teilweise noch von einer „zentralen Hülle“ umgeben sind (Abb. 1). Von den äußeren A-Tubuli reichen Radialspeichen in Richtung der Zentraltubuli. Die Radialspeichen sind aus mindestens 17 verschiedenen Proteinen aufgebaut [2–4]. Die Bedeutung der Radialspeichen wird bei Patienten mit Störungen dieser Strukturen deutlich. Fehlen sie, so sind die Zilien unbeweglich [5]. Verbindungen zwischen den äußeren Mikrotubulusdubletten werden über „Nexin“-Brücken gebildet. Ihre genaue Funktion ist noch unklar, sie könnten jedoch als flexible Verbindungen in den mechanischen Zyklus der Bewegung involviert sein [6].

An den äußeren Mikrotubulusdubletten im Axonem sind elektronenmikroskopische kleine Fortsätze erkennbar, die eine entscheidende Rolle für die Integrität und insbesondere für die Motilität der Flagellen spielen. Hierbei handelt es sich um die Dyneinarme, die entsprechend ihrer Position zu den beiden zentralen Tubuli als innere bzw. äußere Dyneinarme bezeichnet werden. Es handelt sich bei diesen Strukturen um hochmolekulare Komplexe, die unter Verbrauch von ATP die Flagellenbewegung generieren. Bei zahlreichen Patienten mit Asthenozoospermie konnten elektronenmikroskopische Untersuchungen strukturelle Veränderungen bzw. das Fehlen der Dyneinarme belegen [7–9].

Die Ausbildung der Flagelle beginnt unmittelbar nach der Meiose, wobei zunächst die Zentriolen zum distalen Ende der Spermatide wandern. Von hier aus wächst die Flagelle in Richtung des Lumens des Hodenkanals. In den nachfolgenden Differenzierungsschritten wird die Flagelle über ein spezielles Verbindungsstück mit dem Spermienkopf verbunden. Hierzu wandern die Zentriolen von der Peripherie der Zelle in Richtung des Nukleus und vereinigen sich mit der Oberfläche des Kerns.

Bei einigen Männern mit gestörter Fertilität ist diese Verbindung äußerst fragil bzw. nicht korrekt ausgebildet und führt dazu, daß die Flagelle leicht vom Kopf getrennt wird [10, 11]. Zudem finden sich bei diesen Patienten oft auch strukturelle Veränderungen der Flagelle, die eine Reduktion der Motilität der Spermien bedingen. In der Regel betrifft diese Störung den überwiegenden Teil der Spermatozoen (monomorpher Defekt), es kann daher ein genetischer Defekt als Ursache angenommen werden. In der Maus gibt es eine Mutation mit ganz ähnlicher Störung, bei der ebenfalls die Spermienköpfe eine äußerst

Eingegangen: 02. 04. 2004; akzeptiert nach Revision: 27. 04. 2004.
Aus dem Zentrum für Hygiene und Humangenetik der Universität Göttingen

Korrespondenzadresse: PD Dr. Jürgen Neesen, Zentrum für Hygiene und Humangenetik der Universität Göttingen, Heinrich-Düker-Weg 12, D-37073 Göttingen; E-Mail: jneesen@gwdg.de

labile Verbindung zur Flagelle aufweisen. Die Mutation wurde erstmals von Hugenholz und Mitarbeitern 1984 beschrieben [12] und wird durch eine Deletion im Hook1 hervorgerufen [13]. Sie erhielt die Bezeichnung „abnormal spermatozoon head shape“ (*azh*). Hauptauffälligkeit der Mutation ist eine völlig deformierte, oft keulenartige oder sichelartige Kopfform, die sehr stark von der hakenförmigen Struktur normaler Spermien abweicht. Zudem weisen die Spermien der homozygoten *azh*-Tiere Störungen im Bereich des Mittelstückes des Spermischwanzes auf, z. T. sind die Spermien auch unnatürlich geknickt, was zu einer reduzierten Spermienmotilität führt [14].

Häufigkeit von Störungen der Spermienmotilität

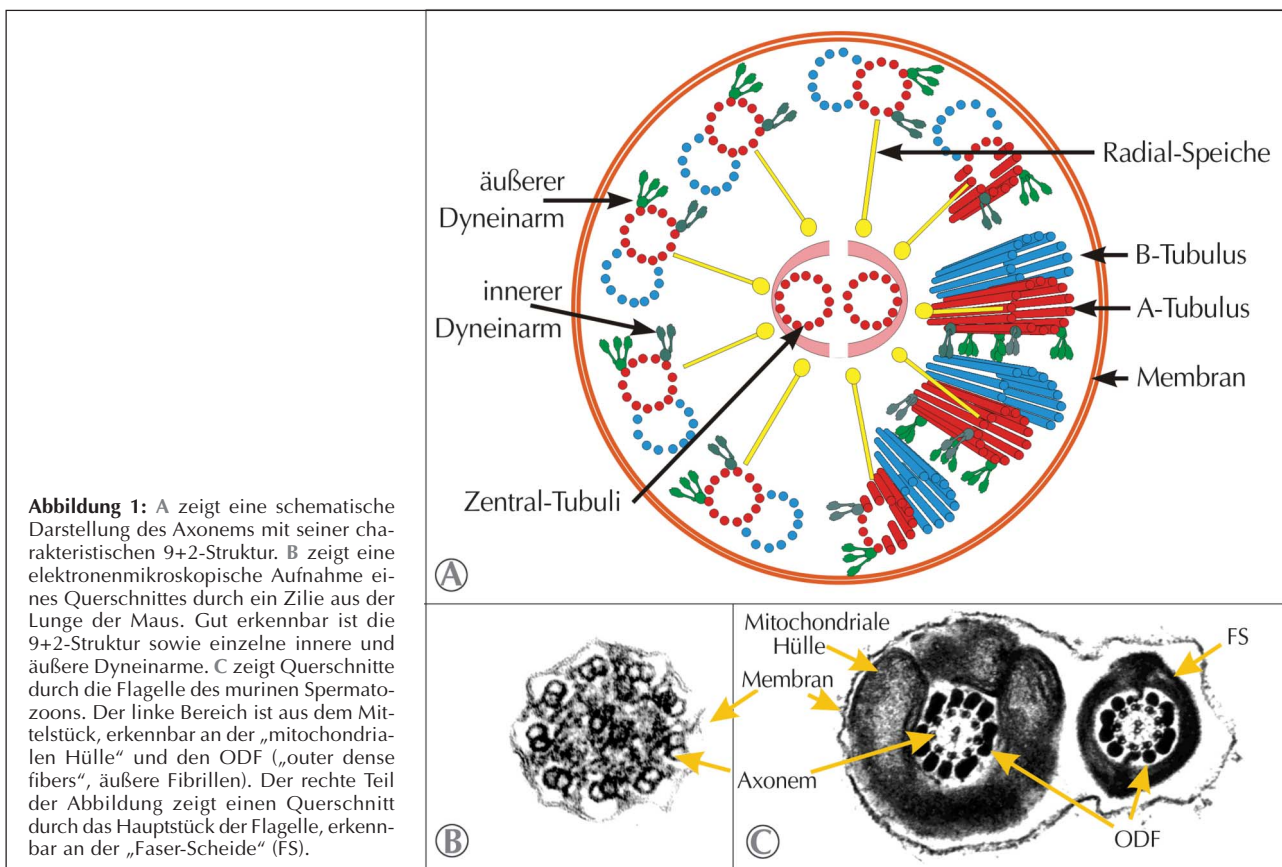
Aufgrund der strukturellen Komplexität der Spermienflagelle ist es nicht verwunderlich, daß Störungen der Spermienmotilität eine wichtige Ursache für die männliche Infertilität darstellen. Die Spermatozoenmotilität zeigt sich dabei als sehr empfindlich gegenüber verschiedenen Einflüssen wie Toxinen, Infektionen, Traumen und genetischen Faktoren [15–17]. Bekannt ist, daß Schwermetalle wie z. B. Cadmium aus dem Zigarettenrauch im Testis akkumuliert werden und dort zu Schädigungen der Spermienmotilität führen können [18]. Auch relativ kurzzeitiges Erwärmen der Testes oberhalb von 42 °C kann die Motilität der Spermatozoen verschlechtern [19].

Zu den wichtigsten genetischen Ursachen für männliche Infertilität gehören Chromosomenanomalien, die bei etwa 5–12 % der infertilen Männer gefunden werden [20, 21]. In der Mehrzahl bedingen chromosomale Veränderungen aber eine Oligo- oder Azoospermie oder ein

OAT-Syndrom, in Einzelfällen können sie auch mit einer Asthenozoospermie assoziiert sein [22]. Insbesondere Inversionen und Translokationen sind hier zu nennen. So berichten Baccetti und Mitarbeiter von zwei Patienten mit 90–100 % immotilen Spermien und einer Inversion in je einem Chromosom 9. Ultrastrukturell wiesen die Spermien beider Patienten Störungen in der fibrillären Hülle auf [23].

Verschiedene Untersuchungen zur Häufigkeit der Asthenozoospermie wurden in den letzten Jahren publiziert. So fanden sich bei einer französischen Untersuchung von 1686 infertilen Paaren bei 17 % der fertilitäts-gestörten Männer eine Asthenozoospermie und bei 21 % eine Oligoasthenoteratozoospermie [24]. Diese Werte stimmen mit neueren Zahlen überein, die bei etwa 30 % der infertilen Männer Störungen der Spermienmotilität beobachten [25, 26]. Eine wesentlich höhere Inzidenz wird von Curi und Mitarbeitern berichtet, sie fanden bei etwa 19 % der untersuchten Männer eine Asthenozoospermie sowie bei 63 % ein OAT-Syndrom [27].

Inwieweit diese Störungen der Spermienmotilität durch genetische Faktoren hervorgerufen werden, ist zur Zeit noch unklar. Einen deutlichen Hinweis auf eine genetische Komponente liefern Untersuchungen von infertilen Nachkommen aus konsanguinen Verbindungen. In dieser Gruppe findet sich ein wesentlich höherer Anteil (27 %) an Patienten mit monomorphen Störungen (z. B. Rundkopf- oder Stummelschwanzspermien) als in der Gruppe von infertilen Männern aus Nicht-Verwandten-Ehen (1 %) [28]. Auch bei einer anderen lichtmikroskopisch durchgeführten Analyse wurde ebenfalls bei rund einem Prozent der untersuchten 4231 infertilen Männer sichtbare monomorphe Veränderungen der Spermienflagelle gefunden. In den meisten Fällen waren die Spermienflagellen stark verkürzt und immotil [29]. Die-



ser sogenannte „Tail-Stump“- oder „Short-Tail“-Defekt wird nicht nur beim Menschen, sondern auch beim Bullen und beim Eber beobachtet [30–32]. Es ist davon auszugehen, daß diesen Störungen Gendefekte zugrunde liegen, da die Störung der „verkürzten Flagellen“ bei Schweinen auf die Nachkommen übertragen werden kann [33].

Möglicherweise werden derartige Störungen durch Mutationen in Genen hervorgerufen, die in einen Prozeß involviert sind, der als „Intra-Flagellärer-Transport“ (IFT) bezeichnet wird. Die Bedeutung dieses Transportprozesses wird in Mutanten der Grünalge *Chlamydomonas* deutlich, bei denen einzelne Komponenten des IFT ausgefallen sind. In diesen Fällen sind die Flagellen der Grünalge ebenfalls stark verkürzt oder fehlen völlig [34, 35]. Zudem gibt es Hinweise, daß der intraflagelläre Transport auch bei der Differenzierung von Spermatozoen eine Rolle spielt, wogegen er aber im reifen Spermium keine Bedeutung zu haben scheint [36]. Als Kandidatengene für diese Veränderung kommen Gene in Betracht, die für Dyneine wie die schwere zytoplasmatische Kette 1b oder die leichte 8 kDa Dynein-Kette kodieren, weil der Funktionsausfall der homologen Gene in *Chlamydomonas* zu verkürzten Flagellen führt.

Syndrome mit gestörter Spermienmotilität

In der MIM-Datenbank (Mendelian Inheritance in Man; <http://www3.ncbi.nlm.nih.gov/Omim>) finden sich zahlreiche Einträge für genetisch bedingte Erkrankungen, bei denen die männliche Fertilität gestört ist. In wenigen Fällen beruht die Fertilitätsstörung bei diesen Syndromen allerdings auf einer reduzierten Spermienmotilität. Ursache für die syndromalen Störungen sind oft Mutationen in solchen Genen, die für Komponenten kodieren, deren Funktionsverlust nicht nur die axonemalen Strukturen in der Spermienflagelle, sondern auch in anderen Organellen – etwa epithelialen Zilien – beeinträchtigt.

Das Usher-Syndrom

Das Usher-Syndrom ist eine genetisch und klinisch heterogene Erkrankung mit Seh- und Hörstörungen. Die Häufigkeit liegt bei etwa 1:20.000–30.000 Geburten. Mehr

als 12 verschiedene Loci konnten bisher identifiziert werden, wobei in sieben Genen Mutationen in Usher-Patienten identifiziert werden konnten. In einzelnen Usher-Patienten beeinträchtigt der Gendefekt neben dem Seh- und Hörvermögen auch die Spermienmotilität [37, 38].

Die Primäre Ziliäre Dyskinesie (PCD)

Im Jahre 1904 beschrieb Siewert erstmals einen Patienten mit Bronchiektasien und Situs inversus [39], 1936 beschrieben dann Kartagener und Mitarbeiter das nach ihm benannte Kartagener-Syndrom [40]. Weitere 40 Jahre später war es dann Afzelius, der erkannte, daß die ziliäre bzw. flagelläre Ultrastruktur in Kartagener-Patienten verändert sein kann [41]. Heute wird die Erkrankung unter dem Begriff „Primäre Ciliäre Dyskinesie“ zusammengefaßt (PCD) (OMIM 242650).

Das Krankheitsbild der PCD läßt sich auf ziliäre Funktionsstörungen zurückführen, wobei diese zu einer verringerten mukoziliären Reinigung des Respirationstraktes führen. Die PCD ist klinisch und genetisch äußerst heterogen [42]. Die Erkrankung ist gekennzeichnet durch starken Husten, oft schon in den ersten Wochen des Lebens, chronisch rezidivierende pulmonale Infekte bis hin zu Bronchiektasien, rezidivierende Otitiden, Sinusitiden. Als klinische Folge können sich bei Betroffenen u. a. auch chronische Bronchitis, Nasenpolypen oder Tonsillitis ergeben. In etwa der Hälfte der Fälle wird ein *Situs inversus* beobachtet (dann als Kartagener-Syndrom bezeichnet). Da bei den männlichen Patienten meist auch die Spermatozoenmotilität beeinträchtigt ist, sind die Mehrzahl der Patienten infertil. Im Gegensatz dazu sind weibliche Patientinnen meistens fertil.

Die Erkrankung wird autosomal rezessiv vererbt und tritt mit einer Häufigkeit von etwa 1:10.000–30.000 auf. Aufgrund des sehr heterogenen Phänotyps der PCD ist davon auszugehen, daß Mutationen in verschiedenen Genen die Krankheit bedingen können. Elektronenmikroskopische Untersuchungen der Zilien der Betroffenen belegen, daß die Fehlfunktionen oft auf Störungen der axonemalen Strukturen zurückgeführt werden können, wobei häufig innere und/oder äußere Dyneinarme fehlen, die Radialspeichen verändert sind oder die zentralen Mikrotubuli betroffen sind.

Tabelle 1: Gene, deren Funktionsverlust in der Maus zu Störungen der Spermienmotilität führen

Gen, Symbol	Phänotyp	Humaner Locus	Literatur
Akap4 (A-kinase anchoring protein)	keine progressive Motilität, Teratozoospermie	Xp11.2	[52]
apoB (apolipoprotein B)	Asthenozoospermie	2p24-p23	[53]
CatSper (sperm cation channel)	Asthenozoospermie	11q12.1	[54]
CatSper2	keine Hyperaktivierung	15q14	[55]
Cα-PKA-subunit (cAMP-dependent protein kinase)	reduzierte progressive Motilität	19p13.1	[56]
EST (estrogen sulfotransferase)	Asthenospermie in älteren Tieren	4q13.1	[57]
Hook1	Asthenoteratozoospermie	1p32.1	[13]
Hrb (HIV-1 Rev binding protein)	Asthenozoospermie, Teratozoospermie	2q36.3	[58]
Inpp5b (inositol polyphosphate 5-phosphatase)	Asthenozoospermie	1p34	[59]
MAK (germ cell-associated serine-threonine kinase)	leichte Asthenozoospermie	6q22	[60]
Mdhc7 (Mouse dynein heavy chain 7)	schwere Asthenozoospermie	3p21	[61]
NHE (Na ⁺ /H ⁺ Exchanger)	stark reduzierte Spermienmotilität	3q13.2	[62]
Smcp (sperm mitochondrion-associated cysteine-rich protein)	leichte Asthenozoospermie	1q21.3	[63]
Spag6 (sperm-associated antigen 6)	Asthenozoospermie, Teratozoospermie	10p12-p11.2	[64]
Tp1 (Transitions-Protein 1)	reduzierte Motilität	2q35-q36	[65]
VDAC3 (Voltage-dependent anion channel)	Asthenozoospermie, leichte Teratozoospermie	8p11.2	[66]

Tatsächlich konnte in den vergangenen Jahren gezeigt werden, daß Mutationen in verschiedenen Dynein-Genen (*DNAI1* und *DNAH5*, *DNAH11*) die Erkrankung verursachen können [43–46]. In verschiedenen anderen Genen blieben dagegen Mutationsanalysen in PCD-Patienten erfolglos [47–51]. Zur Zeit ist unklar, ob diese Gene als Kandidatengene für die PCD auszuschließen sind oder aber nur in einzelnen Patienten als Ursache der PCD in Frage kommen.

Tiermodelle für die Analyse von genetisch bedingten Störungen der Spermienmotilität

Für das Verständnis der molekularen Ursachen einer gestörten Spermienmotilität ist es erforderlich, die Gene zu identifizieren und zu charakterisieren, die für die Funktion der axonemalen Struktur von Bedeutung sind. Die wichtigste Methode stellt hier die Erzeugung sogenannter „Knock-out“-Mäuse dar, bei der gezielt ein Gen durch eine homologe Rekombination inaktiviert wird. Die Auswirkungen des Verlustes der Genfunktion können dann analysiert werden. Mit Hilfe dieser Technik konnten bereits mehr als 250 Gene identifiziert werden, die die weibliche und männliche Fertilität beeinflussen. Für einige dieser Gene konnte ihre Bedeutung für die Spermienmotilität bzw. die Struktur der Spermatozoen aufgezeigt werden. Die Tabelle 1 gibt hierzu einen Überblick. Ob Mutationen in den homologen humanen Genen ebenfalls als Ursache einer Störung der Spermienmotilität in Frage kommen, ist noch für keines der aufgeführten Gene geklärt. Durch die Analyse solcher Knock-out-Mäuse konnten jedoch wichtige Einblicke gewonnen werden, wie die Spermienmotilität im Säuger reguliert wird. Nachfolgend sind hierzu einige Beispiele aufgeführt.

Spermatozoen durchlaufen verschiedene Aktivierungsprozesse wie die Initiierung der Motilität beim Verlassen der Epididymis oder die Induktion der Hyperaktivierung, Kapazitation und Akrosomenreaktion. Alle diese Reaktionen scheinen von einem intrazellulären Anstieg des cAMPs in Abhängigkeit von Bicarbonat-Ionen ausgelöst zu werden. Für die Synthese des cAMPs spielt die lösliche Adenyl-Zyklase eine wichtige Rolle. Die Inaktivierung dieses Gens führt in der Maus zu einem völligen Verlust der progressiven Motilität. Interessanterweise kann durch Zugabe von cAMP die Spermienmotilität wieder hergestellt werden [67].

Neben dem cAMP sind Ca^{2+} -Ionen für die Regulation der Spermienmotilität von zentraler Bedeutung. In die Kontrolle der Ca^{2+} -Konzentration in der Spermiengeißel sind spezifische Ionen-Kanäle involviert. So führt der Ausfall eines neuen Typs von Kalziumkanälen, genannt „CatSper“, zu einer drastischen Reduzierung der progressiven Spermienmotilität um etwa 2/3 [54]. Interessanterweise wird CatSper nur in männlichen Keimzellen exprimiert und ist in der Flagelle lokalisiert. In CatSper-defizienten Mäusen ist der cAMP-abhängige Influx von Ca^{2+} gestört. Wahrscheinlich bedingen veränderte Ca^{2+} -Konzentrationen eine Veränderung in der Phosphorylierung einzelner Proteine, was wiederum die Motilität der Flagelle beeinflusst.

CatSper gehört zu einer kleinen Familie mit vier Mitgliedern, die alle für Ionenkanäle kodieren. Interessanterweise scheinen die verschiedenen Mitglieder sehr spezifische Funktionen bei der Regulation der Spermienmotilität zu haben. Der Verlust von CatSper2 scheint keinen Einfluß auf Spermatogenese oder Akrosomenreaktion zu haben, zudem sind die Motilität und die Anzahl an Spermien unverändert. Trotzdem können CatSper2-

defiziente Spermien nicht fertilisieren. Der Grund hierfür liegt im völligen Fehlen der Induktion der Hyperaktivierung [55].

Wahrscheinlich hat das homologe humane CatSper2-Gen eine ähnliche Funktion. In einer französischen Familie konnte bei drei Brüdern, die an einer kongenitalen dyserythropoetischen Anämie Typ 1 (CDAI) litten, taub waren und zusätzlich eine Asthenozoospermie aufwiesen, neben einer homozygoten CDAI-Mutation eine ca. 70 kb große Deletion nachgewiesen werden. Diese Deletion beinhaltet das CatSper2-Gen, was als Ursache für die Asthenozoospermie der Brüder gewertet wurde [68].

Ca^{2+} und cAMP sind über Phosphorylierungsprozesse in die Regulation der Spermienmotilität involviert. Die cAMP-abhängige Phosphorylierung axonemaler Komponenten ist ein entscheidendes Ereignis für die Initiierung, Aktivierung und Hyperaktivierung der Motilität in Spermien von Seeigeln, Fischen und Säugern [69, 70].

Verschiedene Studien haben gezeigt, daß die Proteinkinase A (PKA) fest ans Axonem gebunden ist, wobei die A-Kinase-Ankerproteine (AKAPs) für die Bindung der PKA an ihre regulierend wirkende Untereinheit verantwortlich sind und die Positionierung der PKA in spezifische subzelluläre Bereiche bewerkstelligen. Zum Beispiel wird Akap4 nur in haploiden Keimzellen exprimiert und kodiert für ein Protein, das in der Faser-Scheide vorhanden ist. Eine Inaktivierung von AKAP4 führt neben strukturellen Veränderungen in der Faser-Scheide auch zu einer stark eingeschränkten Motilität der Spermien [52]. Als mögliche Ursache für die Infertilität wird eine veränderte Verteilung und Menge an PKA-Untereinheiten R1a und R1a innerhalb der Flagelle diskutiert, was letztendlich zu einem veränderten Phosphorylierungsmuster führt [52].

Mitochondriale Dysfunktion und gestörte Spermienmotilität

Die flagelläre Motilität ist abhängig von Energie in Form von ATP, welches von den Mitochondrien zur Verfügung gestellt wird. Daher führen Fehlfunktionen der Mitochondrien, etwa verursacht durch Toxine, in der Regel zu schwerwiegenden Störungen der Motilität von Flagellen und Zilien [71]. Da das Spermatozoon eine bewegliche Zelle darstellt, ist es notwendig, die Mitochondrien als Energielieferanten in das reife Spermium zu integrieren. Diese finden sich im Mittelstück der Spermienflagellen in der mitochondrialen Hülle. Die Mitochondrien umschließen spiralförmig angeordnet die ODFs und das Axonem (vgl. Abb. 1). Über die Proteine, die in die Ausbildung und Funktion der mitochondrialen Hülle involviert sind, ist nicht sehr viel bekannt, allerdings scheinen auch hier strukturelle Veränderungen bzw. eine Dysfunktion der Mitochondrien in direktem Zusammenhang mit schwerer Asthenozoospermie zu stehen [9]. In der Maus konnte gezeigt werden, daß der Verlust eines spannungsabhängigen Anionenkanals (VDAC3) zu Störungen der Spermienmotilität führt [66]. Das Protein ist Bestandteil der äußeren mitochondrialen Membran und findet sich in allen Eukaryonten. In VDAC3-defizienten Mäusen finden sich in 2/3 der epididymalen Spermatozoen Störungen in den axonemalen Strukturen, die aber offensichtlich erst während der Reifung der Spermatozoen entstehen, da sie weder in Spermatiden im Testis noch in epithelialen Zilien gefunden werden [66].

Neben diesen vom Kern kodierten mitochondrialen Proteinen belegen neuere Untersuchungen, daß Veränderungen in der mitochondrialen DNA ebenfalls im Zu-

sammenhang mit einer reduzierten Spermienmotilität stehen. Das mitochondriale Genom kodiert für eine ganze Reihe von Proteinen, die Bestandteile der multimeren Komplexe sind, die in die oxidative Generierung von ATP involviert sind. Ruiz-Pesini und Mitarbeiter untersuchten polymorphe Sequenzen in der mitochondrialen DNA von mehr als 500 Spendern und ordneten diese bekannten Haplotypen zu. Dabei stellten sie einen signifikanten Unterschied fest. Der H-Haplotyp fand sich häufiger bei Spendern mit normaler Spermienmotilität, während der T-Haplotyp besonders häufig bei Patienten mit reduzierter Spermienmotilität ist [72]. Eine mögliche Erklärung hierfür könnte die Beobachtung sein, daß zwei der multimeren Komplexe von T-Haplotyp-Spendern eine verringerte Aktivität im Vergleich zu den Komplexen von H-Haplotyp-Spendern zeigen. Interessant ist dabei, daß die Vererbung der mitochondrialen DNA über die Mutter erfolgt, wobei sich der T-Haplotyp im weiblichen Geschlecht offensichtlich nicht nachteilig auswirkt und es somit zu einer Anhäufung derartiger Veränderungen in der mitochondrialen DNA kommen kann. Verschiedene Autoren vermuten, daß Veränderungen in der mitochondrialen DNA bei einem Teil der Patienten mit Asthenozoospermie die genetische Ursache der Störung darstellen könnten [73].

Ausblick

Unser Wissen hinsichtlich der genetischen Ursachen einer gestörten Spermienmotilität ist immer noch unzureichend. Es kann festgehalten werden, daß Gendefekte, die zu sichtbaren strukturellen Veränderungen in der Spermienflagelle führen, eher selten sind und bei nicht mehr als etwa 1 % der infertilen Männer gefunden werden. Unklar ist, wie häufig solche genetisch bedingten Störungen sind, die licht- oder elektronenmikroskopisch nicht erfaßbar sind. Daß es solche Mutationen gibt, belegen Untersuchungen in Mäusen, die zwar Störungen der Spermienmotilität aufweisen, bei denen aber keine strukturellen Störungen in den Flagellen beobachtet werden [61, 63]. Unklar ist zur Zeit auch noch, in welchem Prozentsatz Veränderungen in der mitochondrialen DNA als Ursache einer gestörten Spermienmotilität in Frage kommen. Patienten mit einer Asthenozoospermie kann zur Zeit noch keine routinemäßige molekulargenetische Analyse angeboten werden. Trotzdem ist es sinnvoll, bei Patienten mit Verdacht auf genetisch bedingte Spermiendefekte DNA-Proben für eine spätere diagnostische Untersuchung zu asservieren. Es ist zu erwarten, daß im Rahmen der sich entwickelnden Chiptechnologie und verbesserter proteomischer Verfahren auch die diagnostischen Möglichkeiten bei männlicher Infertilität verbessert werden.

Literatur:

1. Dutcher SK. Flagellar assembly in two hundred and fifty easy-to-follow steps. *Trends Genet* 1995; 11: 398–404.
2. Diener DR, Ang LH, Rosenbaum JL. Assembly of flagellar radial spoke proteins in *Chlamydomonas*: identification of the axoneme binding domain of radial spoke protein 3. *J Cell Biol* 1993; 123: 183–90.
3. Huang B, Piperno G, Ramanis Z, Luck DJ. Radial spokes of *Chlamydomonas flagella*: genetic analysis of assembly and function. *J Cell Biol* 1981; 88: 80–8.
4. Piperno G, Huang B, Ramanis Z, Luck DJ. Radial spokes of *Chlamydomonas flagella*: polypeptide composition and phosphorylation of stalk components. *J Cell Biol* 1981; 88: 73–9.
5. Sturgess JM, Chao J, Wong J, Aspin N, Turner JA. Cilia with defective radial spokes: a cause of human respiratory disease. *N Engl J Med* 1979; 300: 53–6.

6. Cibert C. Elastic extension and jump of the flagellar nexin links: a theoretical mechanical cycle. *Cell Motil Cytoskeleton* 2001; 49: 161–75.
7. Wilton LJ, Temple-Smith PD, de Kretser DM. Quantitative ultrastructural analysis of sperm tails reveals flagellar defects associated with persistent asthenozoospermia. *Hum Reprod* 1992; 7: 510–6.
8. Ryder TA, Mobberley MA, Hughes L, Hendry WF. A survey of the ultrastructural defects associated with absent or impaired human sperm motility. *Fertil Steril* 1990; 53: 556–60.
9. Gopalkrishnan K, Padwal V, D'Souza S, Shah R. Severe asthenozoospermia: a structural and functional study. *Int J Androl* 1995; 18 Suppl 1: 67–74.
10. Kamal A, Mansour R, Fahmy I, Serour G, Rhodes C, Aboulghar M. Easily decapitated spermatozoa defect: a possible cause of unexplained infertility. *Hum Reprod* 1999; 14: 2791–5.
11. Toyama Y, Kazama T, Fuse H, Katayama T. A case of decapitated spermatozoa in an infertile man. *Andrologia* 1995; 27: 165–70.
12. Hugenholtz AP, Eng VWS, Bruce WR. *Mouse News Letter* 1984; 71: 34–5.
13. Mendoza-Lujambio I, Burfeind P, Dixkens C, Meinhardt A, Hoyer-Fender S, Engel W, Neesen J. The Hook1 gene is non-functional in the abnormal spermatozoon head shape (azh) mutant mouse. *Hum Mol Genet* 2002; 11: 1647–58.
14. Akutsu H, Tres LL, Tateno H, Yanagimachi R, Kierszenbaum AL. Offspring from normal mouse oocytes injected with sperm heads from the azh/azh mouse display more severe sperm tail abnormalities than the original mutant. *Biol Reprod* 2001; 64: 249–56.
15. Biering-Sorensen F, Sonksen J. Sexual function in spinal cord lesioned men. *Spinal Cord* 2001; 39: 455–70.
16. Comhaire FH, Mahmoud AM, Depuydt CE, Zalata AA, Christophe AB. Mechanisms and effects of male genital tract infection on sperm quality and fertilizing potential: the andrologist's viewpoint. *Hum Reprod Update* 1999; 5: 393–8.
17. Lai YM, Lee JF, Huang HY, Soong YK, Yang FP, Pao CC. The effect of human papillomavirus infection on sperm cell motility. *Fertil Steril* 1997; 67: 1152–5.
18. Omu AE, Dashti H, Mohamed AT, Mattappallil AB. Significance of trace elements in seminal plasma of infertile men. *Nutrition* 1995; 11: 502–5.
19. Jannes P, Spiessens C, Van der Auwera I, D'Hooghe T, Verhoeven G, Vanderschueren D. Male subfertility induced by acute scrotal heating affects embryo quality in normal female mice. *Hum Reprod* 1998; 13: 372–5.
20. Kalantari P, Sepehri H, Behjati F, Ashtiani ZO, Akbari MT. Chromosomal studies in infertile men. *Tsitol Genet* 2001; 35: 50–4.
21. Nakamura Y, Kitamura M, Nishimura K, Koga M, Kondoh N, Takeyama M, Matsumiya K, Okuyama A. Chromosomal variants among 1790 infertile men. *Int J Urol* 2001; 8: 49–52.
22. Pandiyan N, Jequier AM. Mitotic chromosomal anomalies among 1210 infertile men. *Hum Reprod* 1996; 11: 2604–8.
23. Baccetti B, Collodel G, Crisa D, Moretti E, Piomboni P. *Notulae seminologicae*. 8. Ultrastructural sperm defects in two men, carriers of autosomal inversion. *Andrologia* 1997; 29: 277–82.
24. Thonneau P, Marchand S, Tallec A, Ferial ML, Ducot B, Lansac J, Lopes P, Tabaste JM, Spira A. Incidence and main causes of infertility in a resident population (1,850,000) of three French regions (1988–1989). *Hum Reprod* 1991; 6: 811–6.
25. Kitilla T. Semen quality of suspected infertile Ethiopians at Family Guidance Association of Ethiopia (FGAE) Central Clinic, Addis Ababa: a retrospective review. *Ethiop Med J* 2002; 40: 325–34.
26. Ikechebelu JJ, Adinma JJ, Orie EF, Ikegwuonu SO. High prevalence of male infertility in southeastern Nigeria. *J Obstet Gynaecol* 2003; 23: 657–9.
27. Curi SM, Ariagno JJ, Chenlo PH, Mendeluk GR, Pugliese MN, Sardi Segovia LM, Repetto HE, Blanco AM. Asthenozoospermia: analysis of a large population. *Arch Androl* 2003; 49: 343–9.
28. Baccetti B, Capitani S, Collodel G, Di Cairano G, Gambera L, Moretti E, Piomboni P. Genetic sperm defects and consanguinity. *Hum Reprod* 2001; 16: 1365–71.
29. Marmor D, Grob-Menendez F. Male infertility due to asthenozoospermia and flagellar anomaly: detection in routine semen analysis. *Int J Androl* 1991; 14: 108–16.
30. Barthelemy C, Tharanne MJ, Lebos C, Lecomte P, Lansac J. Tail stump spermatozoa: morphogenesis of the defect. An ultrastructural study of sperm and testicular biopsy. *Andrologia* 1990; 22: 417–25.

31. Blom, E. A sterilizing tail stump sperm defect in a Holstein-Friesian bull. *Nord Vet Med* 1976; 28: 295–8.
32. Cisale HO, Rivolta MA, Fernandez HA. Tail-stump defect in the semen of a wild boar. *Vet Rec* 2001; 149: 82
33. Sukura A, Makipaa R, Vierula M, Rodriguez-Martinez H, Sundback P, Andersson M. Hereditary sterilizing short-tail sperm defect in Finnish Yorkshire boars. *Vet Diagn Invest* 2002; 14: 382–8.
34. Pazour GJ, Dickert BL, Witman GB. The DHC1b (DHC2) isoform of cytoplasmic dynein is required for flagellar assembly. *J Cell Biol* 1999; 144: 473–81.
35. Pazour GJ, Wilkerson CG, Witman GB. A dynein light chain is essential for the retrograde particle movement of intraflagellar transport (IFT). *J Cell Biol* 1998; 141: 979–92.
36. Henson JH, Cole DG, Roesener CD, Capuano S, Mendola RJ, Scholey JM. The heterotrimeric motor protein kinesin-II localizes to the midpiece and flagellum of sea urchin and sand dollar sperm. *Cell Motil Cytoskeleton* 1997; 38: 29–37.
37. Hunter DG, Fishman GA, Mehta RS, Kretzer FL. Abnormal sperm and photoreceptor axonemes in Usher's syndrome. *Arch Ophthalmol* 1986; 104: 385–9.
38. Connor WE, Weleber RG, DeFrancesco C, Lin DS, Wolf DP. Sperm abnormalities in retinitis pigmentosa. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997; 38: 2619–28.
39. Siewert AK. Ueber einen Fall von Bronchiektasie bei einem Patienten mit Situs inversus viscerum. *Berl Klin Wochr* 1904; 41: 139–41.
40. Kartagener MH, Horlacher A. Situs viscerum inversus und Polyposis nasi in einem Falle familiaerer Bronchiektasien. *Beitr Klin Tuberk* 1936; 87: 331–3.
41. Afzelius BA. A human syndrome caused by immotile cilia. *Science* 1976; 193: 317–9.
42. Blouin JL, Meeks M, Radhakrishna U, Sainsbury A, Gehring C, Sail GD, Bartoloni L, Dombi V, O'Rawe A, Walne A, Chung E, Afzelius BA, Armengot M, Jorissen M, Schidlow DV, van Maldergem L, Wal H, Gardiner RM, Probst D, Guerne PA, Delozier-Blanchet CD, Antonarakis SE. Primary ciliary dyskinesia: a genome-wide linkage analysis reveals extensive locus heterogeneity. *Eur J Hum Genet* 2000; 8: 109–18.
43. Bartoloni L, Blouin JL, Pan Y, Gehrig C, Maiti AK, Scamuffa N, Rossier C, Jorissen M, Armengot M, Meeks M, Mitchison HM, Chung EM, Delozier-Blanche, CD, Craigen WJ, Antonarakis SE. Mutations in the DNAH11 (axonemal heavy chain dynein type 11) gene cause one form of situs inversus totalis and most likely primary ciliary dyskinesia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99: 10282–6.
44. Guichard C, Harricane MC, Lafitte JJ, Godard P, Zaegel M, Tack V, Lalau G, Bouvagnet P. Axonemal dynein intermediate-chain gene (DNAI1) mutations result in situs inversus and primary ciliary dyskinesia (Kartagener syndrome). *Am J Hum Genet* 2001; 68: 1030–5.
45. Olbrich H, Hafner K, Kispert A, Volkel A, Sasmaz G, Reinhardt R, Hennig S, Lehrach H, Konietzko N, Zariwala M, Noone PG, Knowles M, Mitchison HM, Meeks M, Chung EM, Hildebrandt F, Sudbrak R, Omran H. Mutations in DNAH5 cause primary ciliary dyskinesia and randomization of left-right asymmetry. *Nat Genet* 2002; 30: 143–4.
46. Pennarun G, Escudier E, Chapelin C, Bridoux AM, Cacheux V, Roger G, Clement A, Goossens M, Amselem S, Duriez B. Loss-of-function mutations in a human gene related to *Chlamydomonas reinhardtii* dynein IC78 result in primary ciliary dyskinesia. *Am J Hum Genet* 1999; 65: 1508–19.
47. Bartoloni L, Blouin JL, Maiti AK, Sainsbury A, Rossier C, Gehrig C, She JX, Marron MP, Lander ES, Meeks M, Chung E, Armengot M, Jorissen M, Scott HS, Delozier-Blanchet CD, Gardiner RM, Antonarakis SE. Axonemal beta heavy chain dynein DNAH9: cDNA sequence, genomic structure, and investigation of its role in primary ciliary dyskinesia. *Genomics* 2001; 72: 21–33.
48. Maiti AK, Bartoloni L, Mitchison HM, Meeks M, Chung E, Spiden S, Gehrig C, Rossier C, DeLozier-Blanchet CD, Blouin J, Gardiner RM, Antonarakis SE. No deleterious mutations in the FOXJ1 (alias HFH-4) gene in patients with primary ciliary dyskinesia (PCD). *Cytogenet Cell Genet* 2000; 90: 119–22.
49. Pennarun G, Bridoux AM, Escudier E, Dastot-Le Moal F, Cacheux V, Amselem S, Duriez B. Isolation and expression of the human hPF20 gene orthologous to *Chlamydomonas PF20*: evaluation as a candidate for axonemal defects of respiratory cilia and sperm flagella. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2002; 26: 362–70.
50. Pennarun G, Chapelin C, Escudier E, Bridoux AM, Dastot F, Cacheux V, Goossens M, Amselem S, Duriez B. The human dynein intermediate chain 2 gene (DNAI2): cloning, mapping, expression pattern, and evaluation as a candidate for primary ciliary dyskinesia. *Hum Genet* 2000; 107: 642–9.
51. Neesen J, Drenckhahn JD, Tiede S, Burfeind P, Grzmil M, Konietzko J, Dixkens C, Kreutzberger J, Laccone F, Omran H. Identification of the human ortholog of the t-complex-encoded protein TCTE3 and evaluation as a candidate gene for primary ciliary dyskinesia. *Cytogenet Genome Res* 2002; 98: 38–44.
52. Miki K, Willis WD, Brown PR, Goulding EH, Fulcher KD, Eddy EM. Targeted disruption of the Akap4 gene causes defects in sperm flagellum and motility. *Dev Biol* 2002; 248: 331–42.
53. Huang LS, Voyiaziaki E, Chen HL, Rubin EM, Gordon JW. A novel functional role for apolipoprotein B in male infertility in heterozygous apolipoprotein B knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93: 10903–7.
54. Ren D, Navarro B, Perez G, Jackson AC, Hsu S, Shi Q, Tilly JL, Clapham DE. A sperm ion channel required for sperm motility and male fertility. *Nature* 2001; 413: 603–9.
55. Quill TA, Sugden SA, Rossi KL, Doolittle LK, Hammer RE, Garbers DL. Hyperactivated sperm motility driven by CatSper2 is required for fertilization. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 14869–74.
56. Skalhegg BS, Huang Y, Su T, Idzerda RL, McKnight GS, Burton KA. Mutation of the Calpha subunit of PKA leads to growth retardation and sperm dysfunction. *Mol Endocrinol* 2002; 16: 630–9.
57. Qian YM, Sun XJ, Tong MH, Li XP, Richa J, Song WC. Targeted disruption of the mouse estrogen sulfotransferase gene reveals a role of estrogen metabolism in intracrine and paracrine estrogen regulation. *Endocrinology* 2001; 142: 5342–50.
58. Kang-Decker N, Mantchev GT, Juneja SC, McNiven MA, van Deursen JM. Lack of acrosome formation in Hrb-deficient mice. *Science* 2001; 294: 1531–3.
59. Hellsten E, Evans JP, Bernard DJ, Janne PA, Nussbaum RL. Disrupted sperm function and fertilin beta processing in mice deficient in the inositol polyphosphate 5-phosphatase Inpp5b. *Dev Biol* 2001; 240: 641–53.
60. Shinkai Y, Satoh H, Takeda N, Fukuda M, Chiba E, Kato T, Kuramochi T, Araki Y. A testicular germ cell-associated serine-threonine kinase, MAK, is dispensable for sperm formation. *Mol Cell Biol* 2002; 22: 3276–80.
61. Neesen J, Kirschner R, Ochs M, Schmiedl A, Habermann B, Mueller C, Holstein AF, Nuesslein T, Adham I, Engel W. Disruption of an inner arm dynein heavy chain gene results in asthenozoospermia and reduced ciliary beat frequency. *Hum Mol Genet* 2001; 10: 1117–28.
62. Wang D, King SM, Quill TA, Doolittle LK, Garbers DL. A new sperm-specific Na⁺/H⁺ exchanger required for sperm motility and fertility. *Nat Cell Biol* 2003; 5: 1117–22.
63. Nayernia K, Adham IM, Burkhardt-Gottges E, Neesen J, Rieche M, Wolf S, Sancken U, Kleene K, Engel W. Asthenozoospermia in mice with targeted deletion of the sperm mitochondrion-associated cysteine-rich protein (Smcp) gene. *Mol Cell Biol* 2002; 22: 3046–52.
64. Sapir R, Kostetskii I, Olds-Clarke P, Gerton GL, Radice GL, Strauss IJ. Male infertility, impaired sperm motility, and hydrocephalus in mice deficient in sperm-associated antigen 6. *Mol Cell Biol* 2002; 22: 6298–305.
65. Yu YE, Zhang Y, Unni E, Shirley CR, Deng JM, Russell LD, Weil MM, Behringer RR, Meistrich ML. Abnormal spermatogenesis and reduced fertility in transition nuclear protein 1-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 4683–8.
66. Sampson MJ, Decker WK, Beaudet AL, Ruitenbeek W, Armstrong D, Hicks MJ, Craigen WJ. Immotile sperm and infertility in mice lacking mitochondrial voltage-dependent anion channel type 3. *J Biol Chem* 2001; 276: 39206–12.
67. Esposito G, Jaiswal BS, Xie F, Krajnc-Franken MA, Robben TJ, Strik AM, Kuil C, Philipsen RL, van Duin M, Conti M, Gossen JA. Mice deficient for soluble adenylyl cyclase are infertile because of a severe sperm-motility defect. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 2993–8.
68. Avidan N, Tamary H, Dgany O, Cattan D, Pariente A, Thulliez M, Borot N, Moati L, Barthelme A, Shalmon L, Krasnov T, Ben-Asher E, Olender T, Khen M, Yaniv I, Zaizov R, Shalev H, Delaunay J, Fellous M, Lancet D, Beckmann JS. CATSPER2, a human autosomal non-syndromic male infertility gene. *Eur J Hum Genet* 2003; 11: 497–502.
69. Bracho GE, Fritch JJ, Tash JS. Identification of flagellar proteins that initiate the activation of sperm motility in vivo. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 242: 231–7.
70. Morisawa M, Okuno M. Cyclic AMP induces maturation of trout sperm axoneme to initiate motility. *Nature* 1982; 295: 703–4.
71. Yun YS, Min YG, Rhee CS, Jung IH, Koh YY, Jang TY, Jung DH. Effects of alpha-toxin of *Staphylococcus aureus* on the ciliary activity and ultrastructure of human nasal ciliated epithelial cells. *Laryngoscope* 1999; 109: 2021–4.
72. Ruiz-Pesini E, Lapena AC, Diez-Sanchez C, Perez-Martos A, Montoya J, Alvarez E, Diaz M, Urries A, Montoro L, Lopez-Perez MJ, Enriquez JA. Human mtDNA haplogroups associated with high or reduced spermatozoa motility. *Am J Hum Genet* 2000; 67: 682–96.
73. Kao S, Chao HT, Wei YH. Mitochondrial deoxyribonucleic acid 4977-bp deletion is associated with diminished fertility and motility of human sperm. *Biol Reprod* 1995; 52: 729–36.

Mitteilungen aus der Redaktion

Besuchen Sie unsere Rubrik

[Medizintechnik-Produkte](#)



Neues CRTD Implantat
Intica 7 HF-T QP von Biotronik



Artis pheno
Siemens Healthcare Diagnostics GmbH



Philips Azurion:
Innovative Bildgebungslösung

Aspirator 3
Labotect GmbH



InControl 1050
Labotect GmbH

e-Journal-Abo

Beziehen Sie die elektronischen Ausgaben dieser Zeitschrift hier.

Die Lieferung umfasst 4–5 Ausgaben pro Jahr zzgl. allfälliger Sonderhefte.

Unsere e-Journale stehen als PDF-Datei zur Verfügung und sind auf den meisten der marktüblichen e-Book-Readern, Tablets sowie auf iPad funktionsfähig.

[Bestellung e-Journal-Abo](#)

Haftungsausschluss

Die in unseren Webseiten publizierten Informationen richten sich **ausschließlich an geprüfte und autorisierte medizinische Berufsgruppen** und entbinden nicht von der ärztlichen Sorgfaltspflicht sowie von einer ausführlichen Patientenaufklärung über therapeutische Optionen und deren Wirkungen bzw. Nebenwirkungen. Die entsprechenden Angaben werden von den Autoren mit der größten Sorgfalt recherchiert und zusammengestellt. Die angegebenen Dosierungen sind im Einzelfall anhand der Fachinformationen zu überprüfen. Weder die Autoren, noch die tragenden Gesellschaften noch der Verlag übernehmen irgendwelche Haftungsansprüche.

Bitte beachten Sie auch diese Seiten:

[Impressum](#)

[Disclaimers & Copyright](#)

[Datenschutzerklärung](#)