

Journal für

Urologie und Urogynäkologie

Zeitschrift für Urologie und Urogynäkologie in Klinik und Praxis

Hodenbiopsie, Histologie und TESE

Bergmann M

Journal für Urologie und

Urogynäkologie 2007; 14 (3)

(Ausgabe für Österreich), 5-12

Journal für Urologie und

Urogynäkologie 2007; 14 (3)

(Ausgabe für Schweiz), 5-12

Homepage:

www.kup.at/urologie

**Online-Datenbank mit
Autoren- und Stichwortsuche**

Indexed in Scopus

Member of the



www.kup.at/urologie

Krause & Pachernegg GmbH · VERLAG für MEDIZIN und WIRTSCHAFT · A-3003 Gablitz

P.b.b. 022031116M, Verlagspostamt: 3002 Purkersdorf, Erscheinungsort: 3003 Gablitz

Erschaffen Sie sich Ihre ertragreiche grüne Oase in Ihrem Zuhause oder in Ihrer Praxis

Mehr als nur eine Dekoration:

- Sie wollen das Besondere?
- Sie möchten Ihre eigenen Salate, Kräuter und auch Ihr Gemüse ernten?
- Frisch, reif, ungespritzt und voller Geschmack?
- Ohne Vorkenntnisse und ganz ohne grünen Daumen?

Dann sind Sie hier richtig



Hodenbiopsie, Histologie und TESE

M. Bergmann

Die Spermatogenese erfolgt in den Keimtubuli, die aus einer Lamina propria und dem Keimepithel bestehen. Das Keimepithel besteht aus Keimzellen und somatischen Sertoli-Zellen. Sertoli-Zellen triggern die Spermatogenese über die hormonellen Stimuli von FSH und Androgenen und bilden die Blut-Hoden-Schranke, die Spermatozyten und Spermatiden vor dem körpereigenen Immunsystem schützt und so eine Autoimmunreaktion verhindert. Die Spermatogenese umfaßt die Proliferation der Spermatogonien, die Meiose der Spermatozyten und die Differenzierung der Spermatiden in Spermatozoen (Spermiogenese). Man unterscheidet I–VI verschiedene Assoziationen von Keimzellen – „Stadien der Spermatogenese“ –, die in einem „multi-stage arrangement“ in der Längsachse der Keimtubuli angeordnet sind. Verschiedene Spermatogenesedefekte in benachbarten Keimtubuli: „Bunte Atrophie“ ist assoziiert mit Differenzierungsdefiziten der Sertoli-Zellen. Biopsien sollten in Bouin'scher Lösung fixiert werden. Die Diagnose des Carcinoma in situ erfolgt durch den immunhistochemischen Nachweis der plazentalen alkalischen Phosphatase, die ausschließlich von den CIS-Zellen exprimiert wird. Die histologische Evaluierung erfolgt über ein „score count“-Verfahren und die Applikation moderner histologischer Techniken zum Protein- und mRNA-Nachweis. Der sonographische Befund einer Mikrolithiasis korreliert histologisch mit dem Auftreten intratubulärer sphärischer Konkreme, einer Verdickung der Lamina propria und eines Tubulusschattens. Er ist nicht spezifisch für CIS/TIN, korreliert aber mit CIS/TIN in einem kleinen Subkollektiv von Patienten und bestätigt das erhöhte Risiko infertiler Patienten, einen Hodentumor zu entwickeln. Bei Klinefelter-Patienten besteht die Chance einer fokalen spermatogenetischen Restfunktion, die die Möglichkeit einer TESE/ICSI-Therapie eröffnet. Die Hodenbiopsie sollte nur unter Einhaltung strikter Kriterien für Indikation und histologische Evaluation in dafür qualifizierten Zentren, z. B. durch die „European Academy of Andrology“ (EAU), durchgeführt werden.

Spermatogenesis proceeds within testicular seminiferous tubules consisting of the peritubular lamina propria and the seminiferous epithelium. The seminiferous epithelium consists of germ cells and somatic Sertoli cells. Sertoli cells trigger germ cell development by mediating FSH and androgen hormonal stimuli and create the blood-testis barrier that prevents spermatocytes and spermatids from autoimmune response. Spermatogenesis includes proliferation of spermatogonia, meiosis of spermatocytes, and differentiation of spermatids into spermatozoa (spermiogenesis). There are I–VI different specific germ cell associations – „stages of spermatogenesis“ – being sequentially arranged along the length of a tubule in a multi-stage arrangement. Different impairment of spermatogenesis occurs in adjacent seminiferous tubules (mixed atrophy) and is associated with differentiation deficits of Sertoli cells. Biopsy specimen should be fixed in Bouin's solution. Diagnosis of the pre-invasive carcinoma in situ is based on the immuno-histochemical demonstration of placental-like alkaline phosphatase (PLAP), being exclusively expressed in CIS cells. Histological evaluation should be performed using a „score count“ system, and the application of histological techniques for protein and mRNA expression. Ultrasonographic mikrolithiasis corresponds to the occurrence of intratubular spherical concretions, thickening of the lamina propria and tubular shadows. It is not specific for CIS/TIN, but in a small subgroup, mikrolithiasis additionally correlates also with CIS/TIN and confirms the increased risk for the development of testicular germ cell tumours in infertile men. Klinefelter patients sometimes reveal focal spermatogenic activity within the testis offering the possibility of TESE/ICSI treatment. Testicular biopsy should only be performed considering strict criteria of indication, and histological evaluation in qualified centres, i. e. recommended by the European Academy of Andrology (EAA). *J Urol Urogynäkol* 2007; 14 (3): 5–12.

Die Hodenbiopsie ist ein invasives diagnostisches Verfahren mit einer entsprechenden Belastung und Risiko für den Patienten, das nur nach strikten Kriterien und strenger Indikation vorgenommen wird. Voraussetzung für eine fundierte histologische Analyse der Hodenbiopsie ist die Kenntnis des Ablaufs der normalen Spermatogenese, um Abweichungen oder pathologische Prozesse überhaupt erkennen zu können, sowie die Kenntnis der relevanten Termini, um einen Biopsiebericht zu verfassen, der den histologischen Befund korrekt wiedergibt.

Definitionen

Der Begriff „Spermatogenese“ umfaßt den gesamten Prozeß der Keimzellbildung von den auf der Wand der Tubuli sitzenden Stammzellen, den Spermatogonien, bis zu reifen Spermien.

Er beinhaltet:

1. die Proliferation und Differenzierung der Spermatogonien,
2. die meiotischen Reifeteilungen der Spermatozyten,
3. die Transformation der haploiden runden Spermatiden zu Spermatozoen, die als „Spermiogenese“ (synonym: „Spermatohistogenese“) bezeichnet wird und
4. das Freisetzen der ausdifferenzierten Spermatiden in das Lumen der Keimtubuli (Spermiatio). Die aus dem Keimepithel freigesetzte Keimzelle wird als „Spermatozoon“ (synonym: „Spermium“) bezeichnet.

Korrespondenzadresse: Prof. Dr. Martin Bergmann, Institut für Veterinär-anatomie, -histologie und -embryologie, D-35392 Gießen, Frankfurter Straße 98, E-Mail: martin.bergmann@vetmed.uni-giessen.de

Keimtubuli (Tubuli seminiferi)

Die Keimtubuli bestehen aus einer Wand, der Lamina propria, und dem Keimepithel. Die Lamina propria (~ 8 µm) setzt sich aus 4–5 Lagen von überwiegend kontraktile Zellen (Myofibroblasten) sowie kollagenen Fasern zusammen.

Das Keimepithel (~ 80 µm) liegt wie jedes Epithel auf einer Basallamina und besteht aus Keimzellen und somatischen Sertoli-Zellen. Der Durchmesser der Keimtubuli beträgt ca. 180 µm bis 250 µm.

Die Sertoli-Zellen reichen von der Basallamina an der Tubuluswand bis zum Tubuluslumen. Sie sezernieren eine Vielzahl von Faktoren und triggern somit die Spermatogenese. Außerdem transportieren sie die für die Spermatogenese notwendigen hormonellen Stimuli, da sie als einzige Zellen im Keimepithel Rezeptoren für Testosteron und FSH besitzen. Zwischen den Sertoli-Zellen liegen die Keimzellen. Jede Sertoli-Zelle ist mit einer bestimmten Zahl von Keimzellen in Kontakt. Sie ist ein Maß für die Quantität der Spermatogenese und beträgt beim Mann etwa 10 Keimzellen pro Sertoli-Zelle. Sertoli-Zellen unterteilen das Keimepithel durch interzelluläre „tight junctions“, die Teil eines komplexen Systems von Interzellularkontakten zwischen benachbarten Sertoli-Zellen sind, in ein basales Kompartiment mit den Spermatogonien und ein adluminales Kompartiment mit Spermatozyten und Spermatiden. Sie bilden so innerhalb des Keimepithels die Blut-Hoden-Schranke, eine immunologische Barriere, da die Keimzellen ab dem Stadium der primären Spermatozyten auf ihrer Zelloberfläche Antigene ausbilden, die vom körpereigenen Immunsystem als fremd erkannt werden und bei Schä-

Abbildung siehe Printversion

Abbildung siehe Printversion

Abbildung 1: Histologischer Schnitt durch das Keimepithel. Ap = Spermatogonie Typ A „pale“, Ad = Spermatogonie Typ A „dark“, sgB = Spermatogonie Typ B, p = primäre Spermatozyte im Pachytän, rsd = frühe runde Spermatiden, elsd = elongierende Spermatiden. Hämatoxylin-Eosin, Primärvergrößerung x 40 (mod. Nachdruck aus: Bergmann M. Spermatogenese. Physiologie und Pathologie. Urologe A 2005; 44: 1131–2, 1134–8, mit freundlicher Genehmigung des Springer Verlags, © Springer 2005).

digung der Barriere eine Autoimmunreaktion hervorrufen können.

Innerhalb des Keimepithels verläuft die Spermatogenese von der Wand (basal) zum Lumen (adluminal) (Abb. 1). Es können drei Phasen der Keimzellbildung unterschieden werden:

1. Mitotische Proliferation und Differenzierung (Spermatogonien)
2. Meiotische Reifeteilungen (Spermatozyten)
3. Differenzierung der haploiden Spermatiden zu Spermien (Spermio-genese)

Mitotische Proliferation und Differenzierung (Spermatogonien)

Spermatogonien haben wie alle anderen Körperzellen einen diploiden Chromosomensatz. Dabei besteht jedes Chromosom (n) aus einer DNA-Doppelhelix (Chromatid = C) (46xy, 2n2C). Sie haben Kontakt mit der Basallamina der Tubuluswand. Man unterscheidet aufgrund unterschiedlicher Kernmorphologie Spermatogonien Typ A („pale“ und „dark“) und Typ B. Spermatogonien Typ A sind mitotisch aktiv und bilden einen lebenslangen Pool von Stammzellen für die Spermatogenese. Ein Teil von ihnen differenziert sich zu Spermatogonien Typ B. Auch diese Zellen sind mitotisch aktiv (Abb. 1, 2). Nach Abschluß der Zellteilungen lösen sich die Spermatogonien Typ B von der Wand des Keimtubulus und treten in die Meiose ein. Bedingt durch eine unvollständige Zytokinese nach der letzten mitotischen Teilung bleiben die Keimzellen über Interzellularbrücken miteinander verbunden und bilden Klone, die eine synchrone Keimzellreifung ermöglichen.

Meiotische Reifeteilungen (Spermatozyten)

Der Eintritt in die Meiose beginnt durch die Verdoppelung des DNA-Gehaltes. Danach besteht jedes Chromosom aus zwei Chromatiden, die sich nicht vollständig voneinander

Abbildung 2: Schema der Spermatogenese (Nachdruck aus: Bergmann M. Spermatogenese. Physiologie und Pathologie. Urologe A 2005; 44: 1131–2, 1134–8, mit freundlicher Genehmigung des Springer Verlags, © Springer 2005).

trennen. Die Keimzellen werden nun als primäre Spermatozyten (Spermatozyten I) (46xy, 2n4C) bezeichnet. Die Prophase der Meiose wird in Leptotän, Zygotän und Pachytän unterteilt und dauert ca. 3 Wochen.

In der 1. Reifeteilung werden die Chromosomen auf die beiden Tochterzellen verteilt, ohne daß die Chromatiden jedoch voneinander getrennt werden. Es entstehen so aus einer primären Spermatozyte zwei sekundäre Spermatozyten (Spermatozyte II) (23x oder 23y, 1n2C). Sekundäre Spermatozyten teilen sich schon nach wenigen Stunden wieder (2. Reifeteilung). Diese zweite Reifeteilung erfolgt ohne eine erneute Verdoppelung des DNA-Gehaltes. Bei dieser Teilung werden die Chromatiden eines jeden Chromosoms endgültig voneinander getrennt. Es entstehen Spermatiden mit einem haploiden Chromosomensatz (23x oder 23y, 1n1C). Die Meiose wird als Reduktionsteilung bezeichnet, da hier der ursprüngliche Chromosomensatz der diploiden Spermatogonien (2n) auf den haploiden Chromosomensatz der Spermatiden (1n) reduziert wird (Abb. 1, 2).

Differenzierung der Spermatiden zu Spermien (Spermio-genese, synonym: Spermatohistogenese)

Frühe Spermatiden sind runde Zellen, die sich zu Spermien transformieren. Diese Transformation ist charakterisiert durch mehrere gleichzeitig ablaufende Prozesse:

1. Bildung des Spermienkopfes
2. Bildung des Akrosoms
3. Bildung der Geißel (Spermienchwanz)
4. Abschnürung des überflüssigen Zytoplasmas

Bildung des Spermienkopfes

Die Bildung des Spermienkopfes erfolgt durch Kondensierung des Zellkerns auf etwa 10 % seines ursprünglichen Volumens. Ermöglicht wird dies durch den Ersatz der mit der DNA assoziierten Kernproteine, den Lysin-reichen

Histonen, durch Zystein-reiche Protamine. Beim Menschen werden ca. 85 % aller Histone durch Protamine ersetzt (Abb. 3). Der Protamingehalt eines Spermiums ist notwendig bei der Dekondensierung des Spermienkopfes in der Eizelle bei der Bildung des männlichen Vorkerns nach der Befruchtung und somit ein fertilitätsrelevanter Parameter [1].

Bildung des Akrosoms

Die Akrosombildung erfolgt über mehrere Phasen: Die erste Phase ist charakterisiert durch die Bildung eines akrosomalen Bläschens aus der Fusion zahlreicher vom Golgiapparat der Zelle abgeschnürter Lysosomen (Golgi-phase). Dieses akrosomale Bläschen lagert sich in der weiteren Entwicklung dem Zellkern auf (Kappenphase) und entwickelt sich zeitgleich mit der Kondensierung des Zellkerns zum Akrosom (Akrosomphase) (Abb. 3a). Das Akrosom enthält Enzyme wie Hyaluronidase und Akrosin. Die Hyaluronidase wird bei der Akrosomreaktion freigesetzt und löst die Interzellularbrücken der Corona-radiata-Zellen auf, während das Akrosin als membranständiges Enzym der inneren akrosomalen Membran der Auflösung der die Eizelle umgebenden Zona pellucida dient.

Bildung der Geißel

Die Bildung der Geißel geht von zwei Zellorganellen, den Zentriolen, aus, die in „T-Stellung“ zueinander liegen. Das eine Zentriol nimmt Kontakt mit dem Spermatidenkern auf, und aus dem zweiten wachsen Mikrotubuli (2 periphere Doppeltubuli und 2 zentrale Tubuli: 9 + 2 Muster), welche die Zelloberfläche vorstülpen und somit die Geißel bilden. Die Ausbildung der Geißel beginnt in der Kappenphase der Akrosombildung und ist erst mit der Freisetzung des Spermiums abgeschlossen (Abb. 3a). Am Ende wird das überschüssige Zytoplasma der Spermatiden als Residualkörper abgeschnürt und von den Sertoli-Zellen abgebaut. Die Spermatische wird in das Lumen des Keimtubulus abgegeben und dann als Spermatozoon bezeichnet. Die reifen Spermien gelangen danach durch peristaltische Kontraktionen der Tubuluswand über das Rete testis und die Ductuli efferentes passiv in den Nebenhoden.

Kinetik der Spermatogenese

Auf Querschnitten eines Keimtubulus lassen sich verschiedene charakteristische Assoziationen von Keimzellen unterscheiden, die als Stadien der Spermatogenese bezeichnet werden. Beim Menschen werden 6 Stadien (I–VI) unterschieden [2]. Diese Stadien sind Ausdruck mehrerer „Spermatogenesewellen“, die im Keimepithel gleichzeitig ablaufen:

- Stadium I ist definiert durch das Auftreten der frühen runden Spermatiden nach der 2. Reifeteilung.
- Stadium II ist charakterisiert durch die endgültige Reifung der elongierten Spermatiden, das Abschnüren des Zytoplasmas (Residualkörper) und der Spermiation.
- Im Stadium III beginnt die Kondensierung des Zellkerns der nächsten Spermatidengeneration, und es erfolgt der Eintritt der Spermatogonien Typ B in die Meiose.
- Die Stadien IV und V zeigen eine zunehmende Kondensierung der Spermatidenkerne und lassen sich durch die Existenz der primären Spermatozyten im Leptotän (Stadium IV) und Zygotän (Stadium V) unterscheiden. Am Ende des Stadiums V durchlaufen die primären Spermatozyten die erste Reifeteilung.

Abbildung siehe Printversion

Abbildung 3: Spermiogenese: (a): schematische Darstellung der Spermiogenese, (b, c): Protein/DNA-Assoziation von Histonen (b) und Protaminen (c) (mod. Nachdruck aus: Bergmann M. Physiology of spermatogenesis. In: Schill WB, Comhaire F, Hargreave T (eds). Andrology for the clinician. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, 2006; 272–81, mit freundlicher Genehmigung des Springer Verlags, © Springer 2006).

- Stadium VI ist definiert durch die Existenz der sekundären Spermatozyten.

Diese Stadien sind in Längsrichtung eines Keimtubulus angeordnet und werden als Spermatogenesewelle bezeichnet. Im Unterschied zu Nagern oder größeren Säugern wie Hund, Pferd, Schwein oder Rind findet man beim Menschen und den großen Menschenaffen auf gegebenen Tubulusquerschnitten immer mehr als ein Stadium („multi-stage arrangement“ vs. „single-stage arrangement“) [3, 4].

Die Dauer der Spermatogenese beträgt ca. 74 Tage [5]. Die Passage durch den Nebenhodengang dauert im Mittel ca. 12 Tage, so daß vom Beginn der Spermatogenese bis zum Erscheinen des Spermiums im Ejakulat ca. 86 Tage vergehen. Die Effektivität der menschlichen Spermatogenese liegt bei etwa 6×10^6 Spermatozoen pro Gramm Hodengewicht/Tag.

Störungen der Spermatogenese sind charakterisiert durch ein heterogenes Muster von Defekten der Keimzell- sowie der somatischen Sertoli-Zell-Population, die innerhalb eines Hodens gleichzeitig vorkommen und die Ursache für eine Oligoasthenozoospermie (OAT) oder Azoospermie sein können. Eine kausale Diagnose der testikulär bedingten Infertilität einschließlich des präinvasiven Carcinoma in situ (CIS; synonym: intratestikuläre Neoplasie; TIN) als Vorstufe von Keimzelltumoren ist nur möglich, wenn reproduzierbare Bedingungen in Bezug auf Fixierung und Einbettung einer Biopsie sowie einer histologischen Evaluation unter Einbeziehung moderner Verfahren der Darstellung von RNA und Proteinexpression eingehalten werden.

Spermatogenesedefekte als Ursache einer Infertilität lassen sich nur durch die histologische Analyse einer Hodenbiopsie sicher klären. Nach EAU-Richtlinien [6] ist eine therapeutische Biopsie indiziert:

1. bei obstruktiver Azoospermie,
2. bei hypergonadotroper Azoospermie, um durch testikuläre Spermienextraktion (TESE) Spermatozoen für eine assistierte Reproduktion, z. B. der intrazytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI), zu erhalten.

Abbildung siehe Printversion

Abbildung 4: TESE-Sandwich-Technik der Hodenbiopsie (Nachdruck aus: Bergmann M. Evaluation of testicular biopsy samples from the clinical perspective. In: Schill W-B, Comhaire F, Hargreave T (eds). *Andrology for the clinician*. Springer Verlag, Berlin-Heidelberg, 2006; 454–61, mit freundlicher Genehmigung des Springer Verlags, © Springer 2006).

3. Eine diagnostische Biopsie ist außerdem indiziert im Falle einer Refertilisierung nach Vasektomie und
4. zum Ausschluß eines Hodentumors z. B. des kontralateralen Hodens bei klinisch manifestem Hodentumor oder nach ultrasonographisch auffälligem Befund (Mikrolithiasis, „Schneegestöber“, „Sternhimmelphänomen“).

Diese Richtlinien empfehlen ebenfalls eine multiple Biopsie von drei verschiedenen Lokationen unter Berücksichtigung der anatomischen Verhältnisse der testikulären Gefäßversorgung aufgrund bekannter lokaler Unterschiede der Spermatogenese, z. B. fokale Areale mit zumindest qualitativ intakter Spermatogenese bei hypergonadotrop azoospermen Patienten mit überwiegend SCO („Sertoli Cell Only Syndrome“) oder fokaler Verteilung des präinvasiven CIS (siehe unten). Die EAU-Richtlinien empfehlen die von Jezek et al. [7] entwickelte „Sandwich“-Technik, die Kryokonservierung, TESE und Histologie miteinander kombiniert (Abb. 4). Die Fixierung sollte durch Bouinsche Lösung mit anschließender Einbettung in Paraffin erfolgen, da sich hierdurch eine im Vergleich zur Formalinfixierung deutlich bessere Strukturhaltung erzielen läßt, die eine sichere morphologische Analyse erlaubt und im Unterschied zur Fixierung mit Glutaraldehyd (Semi-Ultradünnschnitt-Technologie) die Option der Applikation moderner funktioneller molekularbiologischer Nachweisverfahren für Proteine (Immunhistochemie) und mRNA (In-situ-Hybridisierung) ermöglicht. Dieses Material erlaubt darüber hinaus die Extraktion von DNA und RNA vom Schnitt mit anschließendem, auch quantitativem Nachweis mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR). Die in der Pathologie routinemäßig angewandte Formalinfixierung ist für Hodengewebe obsolet [8].

Spermatogeneschäden, die zu einer Infertilität führen, sind histologisch häufig assoziiert mit einer Hypospermatogenese, d. h. einer nur qualitativ vorhandenen Spermatogenese in den einzelnen Keimtubuli, einem teilweisen oder vollständigen Arrest der Spermatogenese auf der Stufe runder Spermatiden, primärer Spermatozyten oder Spermatogonien, einem totalen Verlust von Keimzellen, („Sertoli Cell Only Syndrome“ = SCO) oder einer totalen Atrophie des Keimepithels, bei dem ausschließlich eine durch Kollageneinlagerung verdickte Tubuluswand persistiert (Tubulusschatten). Darüber hinaus findet man un-

Abbildung siehe Printversion

Abbildung 5: Bunte Atrophie der Spermatogenese: sda = Arrest der Spermatogenese auf der Stufe der frühen runden Spermatiden, sga = der Spermatogonien, SCO = Sertoli Cell Only, ts = Tubulusschatten, sk = intratubuläre sphärische Konkremente. Inset: Keimepithel mit Megalospermatozyten (mgsc). Hämatoxylin-Eosin, Primärvergrößerung x 10, Inset: x 40 (mod. Nachdruck aus: Bergmann M. *Spermatogenese. Physiologie und Pathologie*. Urologe A 2005; 44: 1131–2, 1134–8, mit freundlicher Genehmigung des Springer Verlags, © Springer 2005).

terschiedliche Differenzierungsstörungen von Keimzellen wie z. B. einen Meiosearrest (Megalospermatozyten) oder Spermiogenesestörungen (mehrkernige Spermatiden). In Keimtubuli mit einer Hypospermatogenese hat sich gezeigt, daß diese Spermatiden einen Defekt des Histon-Protaminaustausches zeigen können [1] – ein Umstand, der bei der Prognose des Erfolgs einer ICSI nach TESE bei azoospermen Patienten in Betracht gezogen werden muß. Die Tatsache, daß diese Defekte in verschiedenen benachbarten Keimtubuli innerhalb eines Hodens auftreten können, wird als „bunte Atrophie der Spermatogenese“ [9] bezeichnet (Abb. 5).

Jeder spermatogenetische Defekt ist assoziiert mit einem Differenzierungsdefizit der in diesen Keimtubuli vorhandenen Sertoli-Zellen, was sich in der Differenzierung der Zellkerne [10] bzw. des im Zellkern exprimierten Androgenrezeptors [11] sowie der Expression unterschiedlicher Marker, wie fetales Zytokeratin 18 [12] und Anti-Müller-Hormon [13, 14], nachweisen läßt. Man findet also bei testikulär bedingt infertilen Patienten immer eine in bezug auf ihren Differenzierungszustand heterogene Population von Sertoli-Zellen (Abb. 6). Seit langem ist bekannt, daß erhöhte FSH-Werte histologisch mit dem Auftreten von SCO-Tubuli assoziiert sind [15].

Eine profunde funktionell histologische Beurteilung einer Hodenbiopsie erfordert eine semiquantitative („score count“-) Analyse z. B. nach Johnson [16] oder Bergmann und Kliesch [17], die ein Maß für den Erhalt der zumindest qualitativ intakten Spermatogenese liefert. Der „Johnson-Score“ ist aufwendig, da er auf der Klassifizierung eines jeden einzelnen Tubulus basiert; er erlaubt eine Korrelation zwischen der Histologie und der Spermiedichte bei oligozoospermen Patienten. Oligozoospermie allein ist aber nach geltenden EAU-Richtlinien keine Indikation für eine Biopsie. Der Score nach Bergmann und Kliesch [17] ist einfach und bestimmt den Prozentsatz der Keimtubuli mit elongierten Spermatiden – die entscheidende Voraussetzung einer erfolgreichen TESE bei Patienten mit einer obstruktiven oder hypergonadotropen Azoospermie, die eine Indikation zur Hodenbiopsie darstellt. Darüber hinaus erfolgt eine zytologische Analyse unter Einschuß

Abbildung siehe Printversion

Abbildung siehe Printversion

Abbildung 6: Sertoli-Zell-Differenzierung: (a): Immunhistochemischer Nachweis des Androgenrezeptors in Sertoli-Zellkernen bei intakter Spermatogenese und (b): in immaturren präpubertären Keimsträngen. Beachte die fehlende oder nur geringe Markierung in (b). (c): Immunhistochemischer Nachweis des Anti-Müller-Hormons in Sertoli-Zellen präpubertärer Keimstränge. Hämatoxylin-Eosin, Primärvergrößerung x 40, Insets x 10 (mod. Nachdruck aus: Bergmann M. Evaluation of testicular biopsy samples from the clinical perspective. In: Schill WB, Comhaire F, Hargreave T (eds). *Andrology for the clinician*. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, 2006; 454–61, mit freundlicher Genehmigung des Springer Verlags, © Springer 2006).

Abbildung siehe Printversion

Abbildung 7: Beurteilungsbogen mit unterschiedlichem histologischen Befund des rechten und linken Hodens sowie lokal unterschiedlichem histologischen Befund des linken Hodens (Nachdruck aus: Bergmann M. Spermatogenese. Physiologie und Pathologie. *Urologe A* 2005; 44: 1131–2, 1134–8, mit freundlicher Genehmigung des Springer Verlags, © Springer 2005).

funktioneller Färbetechniken (Immunhistochemie, In-situ-Hybridisierung), die eine Beurteilung der Ursache der vorliegenden Spermatogenesestörung erlauben (Abb. 7).

CIS/TIN

Das CIS/TIN ist die präinvasive Vorstufe für Seminome und Nichtseminome – mit Ausnahme der spermatozytären

Seminome [18]. Infertile Patienten bzw. Patienten mit einem manifesten unilateralen Hodentumor zeigen eine erhöhte Prävalenz dieses CIS im kontralateralen Hoden [8]. Der Nachweis dieser präinvasiven Tumorzellen erfolgt durch die immunhistochemische Darstellung der plazentalen alkalischen Phosphatase (PLAP), da innerhalb des Keimepithels nur diese Zellen das Enzym exprimieren und dadurch von normalen Keimzellen (Spermatogonien) eindeutig zu differenzieren sind (Abb. 8). Aufgrund des fokalen Verteilungsmusters wird die Sicherheit zur Detektion eines CIS durch eine multiple Biopsie deutlich erhöht [19]. Hodentumore bzw. TIN sind fokal. Bei diesen Patienten finden sich neben einer Azoospermie auch normale oder reduzierte Ejakulatparameter. FSH-Werte und Hodenvolumina korrelieren negativ (FSH) bzw. positiv (Hodenvolumina) signifikant mit der Spermienkonzentration. Daher sollte diesen Patienten bei Kinderwunsch eine andrologische Diagnostik und Überwachung oder die Möglichkeit der Spermienkryokonservierung vor einer Therapie des Tumors/CIS angeboten werden [20, 8]. Das Vorliegen einer ultrasonographisch detektierten Mikrolithiasis („Sternhimmelphänomen“, „Schneegestöber“) kann ein Hinweis auf ein CIS/TIN sein. Studien von Holm et al. [21] und eigene Untersuchungen [22] haben gezeigt, daß intratubuläre Mikrokalzifikationen (sphärische Konkrementen), eine Verdickung der Lamina propria, eine totale Atrophie des Keimepithels sowie eine interstitielle Fibrose oder eine Kombination dieser Parameter histologisch mit diesem ultrasonographischen Befund der Mikrolithiasis bei infertilen Patienten korrelieren, auch wenn kein CIS/TIN vorliegt. In 9 % der Patienten, bei denen die Indikation für die Biopsie aufgrund des sonographischen Befunds gestellt wurde, fand sich ein CIS/TIN, d. h. CIS/TIN korreliert mit einer kleinen Gruppe von Patienten mit Mikrolithiasis und bestätigt das erhöhte Risiko dieser Patienten, einen Hodentumor zu entwickeln (Abb. 9).

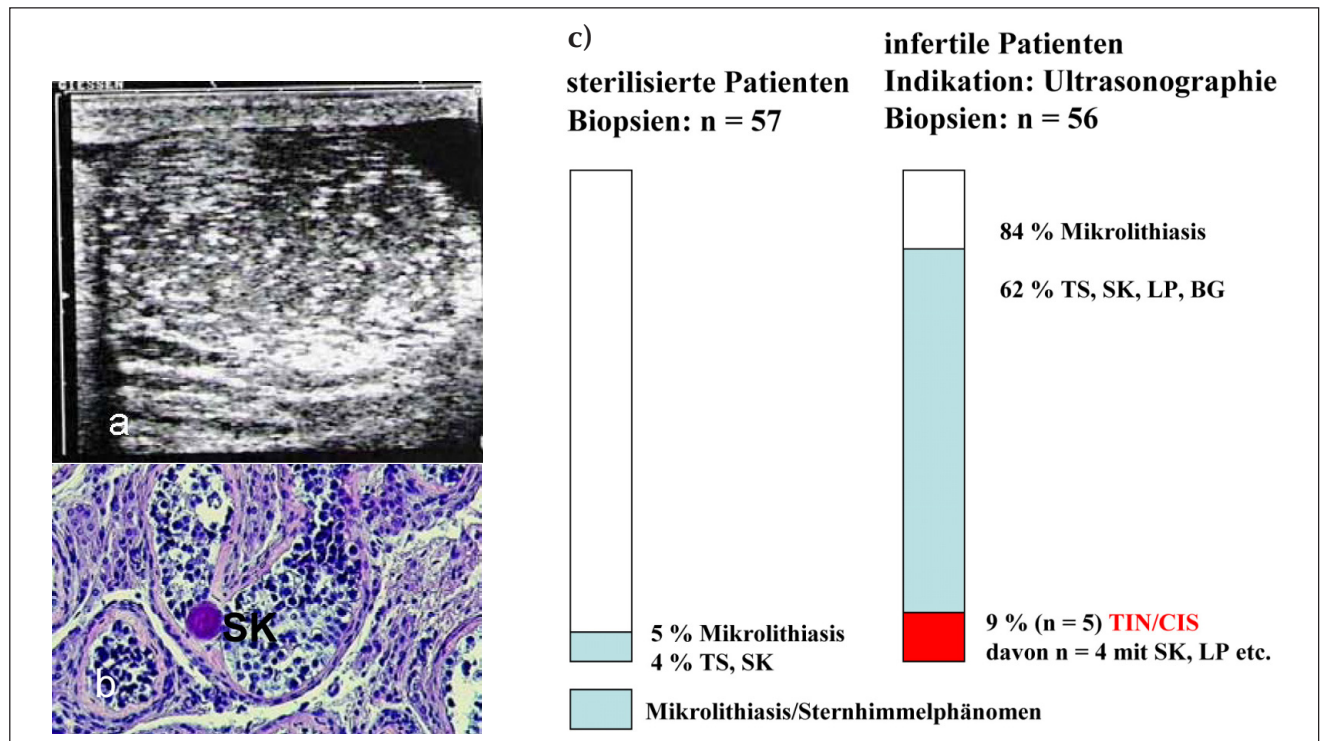
Klinefelter- (47xxy-) Patienten zeigen in der Regel eine hypergonadotrope Azoospermie sowie histologisch ein „Sertoli Cell Only“-Syndrom oder eine totale Atrophie des Keimepithels (Tubulusschatten). Dies ist häufig mit einer diffusen oder knötchenartigen fokalen Leydig-Zell-Hyperplasie assoziiert [23]. Auch bei Klinefelter-Patienten findet sich nach eigenen Daten in bis zu 20 % der Fälle eine zu-

Abbildung siehe Printversion

Abbildung 8: Schema der Histogenese von Keimzelltumoren: Immunhistochemischer Nachweis der plazentalen alkalischen Phosphatase bei präinvasiven CIS-Zellen. Beachte eine normale Spermatogonie ohne immunhistochemische Markierung (Pfeil), Hämatoxilin, Primärvergrößerung x 40 (mod. Nachdruck aus [18], mit freundlicher Genehmigung des Springer Verlags, © Springer 2001).

mindest fokale erhaltene spermatogenetische Restfunktion (Abb. 10), die nach entsprechend sorgfältiger Diagnostik für den Patienten eine Therapie mit TESE/ICSI ermöglicht.

Daten von insgesamt 21 Kindern, die nach TESE und ICSI geboren wurden, zeigen, daß alle einen normalen Karyotyp aufwiesen [24].



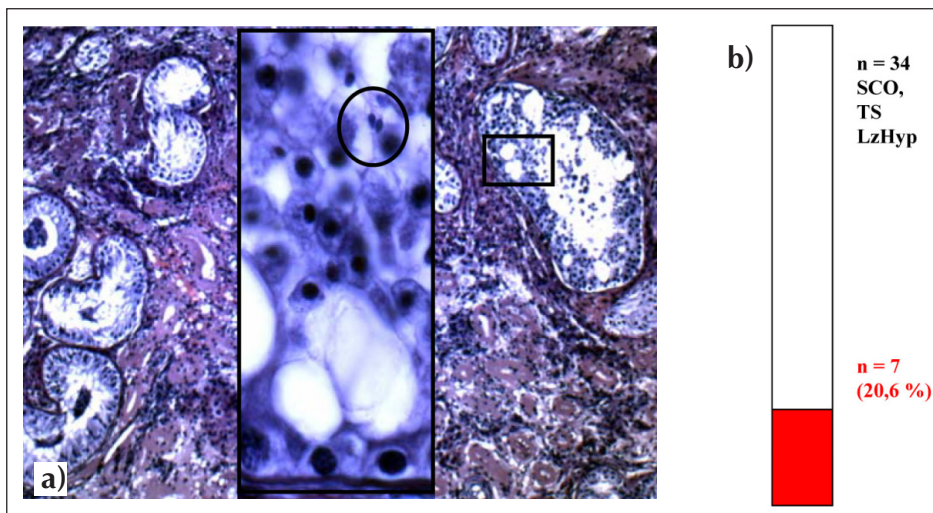


Abbildung 10: Klinefelter: (a): histologischer Befund: SCO, Tubusschatten und Tubuli mit einer spermatogenetischen Restfunktion. Hämatoxylin-Eosin, Primärvergrößerung $\times 10$, Inset $\times 40$. (b): fokale erhaltene spermatogenetische Restfunktion bei Klinefelter-Patienten. SCO = Sertoli Cell Only, TS = Tubulusschatten, LzHyp = Leydig-Zell-Hyperplasie. Weitere Erklärungen siehe Text.

Fazit für die Praxis

Die histologische Beurteilung einer Hodenbiopsie infertiler Patienten erfordert eine exakte Kenntnis des normalen Ablaufs der Spermatogenese einschließlich der human-spezifischen Organisation des Keimepithels, um davon abweichende Spermatogeneschäden sicher erkennen zu können. Die histologische Evaluierung erfolgt nach einem „Score count“-Verfahren unter Berücksichtigung morphologischer Parameter und dem Nachweis fertilitätsrelevanter Marker durch Immunhistochemie (Proteine) und In-situ-Hybridisierung (mRNA). Die Biopsie beider Hoden möglichst an drei verschiedenen Lokationen ist notwendig, um mögliche lokale Unterschiede zu erkennen und die Treffsicherheit für fokale Areale einer spermatogenetischen Restfunktion oder eines präinvasiven CIS/TIN zu erhöhen. Die Mikrolithiasis korreliert histomorphologisch mit einer Zunahme der intratestikulären Kollagenbildung (Verdickung der Lamina propria, Tubulusschatten) und dem Vorkommen von intratubulären sphärischen Konkrementen und geht bei einer kleinen Subgruppe von Infertilitätspatienten mit einem CIS/TIN einher. Bei Klinefelter-Patienten besteht die Chance einer fokalen spermatogenetischen Restfunktion, die die Möglichkeit einer TESE/ICSI-Therapie eröffnet. Die Hodenbiopsie ist ein invasives Verfahren mit großer Bedeutung für den infertilen Patienten und sollte daher nur unter Einhaltung strikter Kriterien für Indikation und histologischer Evaluation in dafür qualifizierten Zentren, z. B. durch die „European Academy of Andrology“ (EAU), durchgeführt werden.

Literatur:

1. Steger K, Fink L, Failing K, Bohle RM, Kliesch S, Weidner W, Bergmann M. Decreased protamin-1 transcript levels in testes from infertile men. *Mol Hum Reprod* 2003; 9: 331–6.
2. Clermont Y. The cycle of the seminiferous epithelium in man. *Am J Anat* 1963; 112: 35–51.
3. Johnson L, McKenzie KS, Snell JR. Partial wave in human seminiferous tubules appears to be a random occurrence. *Tissue Cell* 1996; 28: 127–36.
4. Wistuba J, Schrod A, Greve B, Hodges JK, Aslam H, Weinbauer GF, Luetjens CM. Organization of seminiferous epithelium in primates: Relationship to spermatogenic efficiency, phylogeny, and mating system. *Biol Reprod* 2003; 69: 582–91.
5. Heller CG, Clermont Y. Kinetics of the germinal epithelium in man. *Rec Progr Horm Res* 1964; 20: 545–74.
6. Weidner W, Colpi GM, Hargreave TB, Papp GK, Pomeroy JM. The EAU Working Group on Male Infertility. EAU guidelines on male infertility. *Eur Urol* 2002; 42: 313–22.
7. Jezek D, Knuth UA, Schulze W. Successful testicular sperm extraction (TESE) in spite of high serum follicle stimulating hormone and azoospermia: correlation between testicular morphology, TESE results, semen analysis and serum hormone values in 103 infertile men. *Hum Reprod* 1998; 13: 1230–4.
8. Schmoll HJ, Souchon R, Krege S, et al. European consensus on diagnosis and treatment of germ cell cancer: a report of the European Germ Cell Cancer Consensus Group (EGCCCG). *Ann Oncol* 2004; 15: 1377–99.
9. Sigg C. Klassifizierung tubulärer Hodenatrophien bei Sterilitätsabklärungen. Bedeutung der sogenannten bunten Atrophie. *Schweiz Med Wochenschr* 1979; 109: 1284–93.
10. Bruning G, Dierichs R, Stümpel C, Bergmann M. Sertoli cell nuclear changes in human testicular biopsies as revealed by three dimensional reconstruction. *Andrologia* 1993; 25: 311–6.
11. Regadera J, Martinez-Garcia F, Gonzalez-Peramato P, Serrano A, Nistal M, Suarez-Quian C. Androgen receptor expression in sertoli cells as a function of seminiferous tubule maturation in the human cryptorchid testis. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 413–21.
12. Bergmann M, Kliesch S. The distribution pattern of cytokeratin and vimentin immunoreactivity in testicular biopsies in infertile men. *Anat Embryol* 1994; 190: 515–20.
13. Steger K, Rey R, Louis F, Kliesch S, Behre HM, Nieschlag E, Hoepffner W, Bailey D, Marks A, Bergmann M. Reversion of the differentiated phenotype and maturation block in Sertoli cells in pathological human testis. *Hum Reprod* 1999; 14: 136–43.
14. Sharpe RM, McKinnell C, Kivlin C, Fisher S. Proliferation and functional maturation of Sertoli cells, and their relevance to disorders of testis function in adulthood. *Reproduction* 2003; 125: 769–84.

Prof. Dr. Martin Bergmann

1978–1981 Studium der Biologie und Leibeswissenschaften an der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster. 1979–1994 Assistent am Institut für Anatomie der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster. 1981 Promotion zum Dr. rer. medic. 1986 Habilitation – Venia legendi: Anatomie. 1994–1998 C3-Professor an der Martin-Luther-Universität Halle/Wittenberg. Seit 1998 C4-Professor am Institut für Veterinär-anatomie an der Justus-Liebig-Universität Gießen.



15. Bergmann M, Behre H-M, Nieschlag E. Serum FSH and testicular morphology in male infertility. *Clin Endocrinol* 1994; 40: 133–6.
16. Johnson SG. Testicular biopsy score count – a method for registration of spermatogenesis in human testis: normal values and results in 335 hypogonadal males. *Hormones* 1979; 1: 2–25.
17. Bergmann M, Kliesch S. Hodenbiopsie. In: Krause W, Weidner W (Hrsg.). *Andrologie*. Verlag Enke, Stuttgart, 1998; 66–71.
18. Dieckmann KP, Huland H. Hodentumore. In: Hautmann RE, Huland H (Hrsg.). *Urologie*. Verlag Springer, Berlin-Heidelberg-New York, 2001; 223–36.
19. Kliesch S, Thomaidis T, Schütte B, Pühse G, Kater B, Roth S, Bergmann M. Update on the diagnostic safety for detection of testicular intraepithelial neoplasia (TIN). *APMIS* 2003; 111: 70–5.
20. Kliesch S, Bergmann M, Hertle L, Nieschlag E, Behre HM. Semen parameters and testicular pathology in men with testicular cancer and contralateral carcinoma in situ or bilateral testicular malignancies. *Hum Reprod* 1997; 12: 2830–5.
21. Holm M, Lenz S, De Meyts ER, Skakkebaek NE. Microcalcifications and carcinoma in situ of the testis. *BJU Int* 2001; 87: 144–9.
22. Kemper S, Pühse G, Bergmann M, Kliesch S. Untersuchung zum histologischen Korrelat der Mikrolithiasis testis bei Infertilitätspatienten. *Urologe* 2006; 45 (Suppl 1): 57.
23. Lanfranco F, Kamischke A, Zitzmann M, Nieschlag E. Klinefelter's syndrome. *Lancet* 2004; 364: 273–83.
24. Schiff JD, Palermo GD, Veeck LL, Goldstein M, Rosenwaks Z, Schlegel PN. Success of testicular sperm extraction [corrected] and intracytoplasmic sperm injection in men with Klinefelter syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 6263–7.

Mitteilungen aus der Redaktion

Besuchen Sie unsere zeitschriftenübergreifende Datenbank

☒ [Bilddatenbank](#)

☒ [Artikeldatenbank](#)

☒ [Fallberichte](#)

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](#)