JOURNAL FÜR
FERTILITÄT UND REPRODUKTION

BINKERT F

Diagnostic cytogénétique avant et après un traitement contre la stérilité

Journal für Fertilität und Reproduktion 2006; 16 (4) (Ausgabe für Schweiz), 13-17

Homepage:

www.kup.at/fertilitaet

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

ZEITSCHRIFT FÜR IN-VITRO-FERTILISIERUNG, ASSISTIERTE REPRODUKTION UND KONTRAZEPTION

Indexed in EMBASE/
Excerpta Medica

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

Diagnostic cytogénétique avant et après un traitement contre la stérilité

F. Binkert

Cet article démontre quand un diagnostic cytogénétique peut être opérer avant et aprés le traitement de l'infertilité et les conclusions que l'on peut en tirer.

Die vorliegende Arbeit zeigt, wann vor und nach einer Behandlung gegen Unfruchtbarkeit eine zytogenetische Diagnostik möglich ist und welche Aussagen gemacht werden können. ***J Fertil Reprod 2006 (Schweiz); 9 (4): 13–17***.

La cytogénétique est un domaine de la génétique qui étudie l'organisation du matériel héréditaire dans la cellule. La méthode classique est l'analyse par coloration (marquage en bandes) des chromosomes. Cette méthode permet de mettre en évidence les anomalies numériques ou structurelles des chromosomes, comme p. ex. une trisomie 21 (syndrome de Down) ou une translocation (échange de fragments de chromosomes entre eux). La cytogénétique moléculaire est apparue au siècle dernier dans les années 80. Au moyen de l'hybridation in situ en fluorescence (FISH; «Fluorescence In Situ Hybridization»), il est possible d'analyser aussi bien les chromosomes durant la métaphase que le noyau cellulaire durant l'interphase. Cela permet ainsi de déterminer l'origine de certains fragments de chromosomes. L'existence ou l'absence de fragments de chromosomes, qui ne sont parfois même plus reconnaissables au microscope optique, peut donc être établie au niveau des chromosomes et des noyaux en interphase.

Que sont les chromosomes et comment sont-ils répartis?

Un chromosome constitue la structure organisationnelle du matériel héréditaire ou ADN (acide désoxyribonucléique) contenu dans les cellules des organismes eucaryotes. Il s'agit d'une double hélice d'ADN longue et continue qui peut être enroulée autour d'un grand nombre d'histones (protéines nucléaires) et condensée plusieurs fois de manière compacte en forme de spirale. Les chromosomes sont porteurs des gènes. Une cellule somatique normale est composée de 46 chromosomes: 22 paires d'autosomes et une paire de chromosomes sexuels (2 chromosomes X chez la femme, un chromosome X et un chromosome Y chez l'homme).

En temps normal, les chromosomes sont sous une forme peu condensée (spirale relâchée) et ne sont pas visibles dans le noyau cellulaire. Ils ne sont identifiables au microscope optique que lors de la division cellulaire, après désagrégation de la membrane nucléaire.

Au cours du cycle cellulaire des cellules somatiques (le cycle de la mitose), chaque chromosome est dupliqué dans le noyau cellulaire en interphase durant la phase de synthèse. Les deux chromatides identiques qui en résultent sont maintenues ensemble par le centromère (fig. 1). Après désagrégation de la membrane nucléaire, les chromosomes deviennent visibles au microscope optique durant la phase de division cellulaire appelée mitose. Les chromosomes se séparent au niveau du centromère. Chaque chromatide de chaque chromosome migre alors vers l'une des deux cellules filles nouvellement formées, garantissant ainsi que chaque cellule reçoit les mêmes gènes, étant donné que les deux chromatides sont identiques.

Dans les cellules germinales, le contenu chromosomique doit être divisé en deux étapes. Ce processus est appelé cycle de la méiose et conduit à la formation des ovules et des spermatozoïdes. Au début, comme dans la mitose, les chromosomes sont dupliqués durant la phase de synthèse (fig. 2) et deviennent alors visibles. Contrairement à la mitose, les paires de chromosomes dupliqués s'apparient durant la première phase de division, la prophase I, et un échange de fragments de chromatides a lieu. Ce processus est appelé «crossing-over» et garantit un brassage génétique. Durant la métaphase I, les chromosomes ne sont pas séparés, mais chaque chromosome dupliqué migre vers l'une des cellules filles nouvellement formées. Cette division réductionnelle s'appelle méiose I. Les cellules ainsi constituées sont, chez la femme, un ovocyte secondaire et un premier globule polaire; chez l'homme, il s'agit de

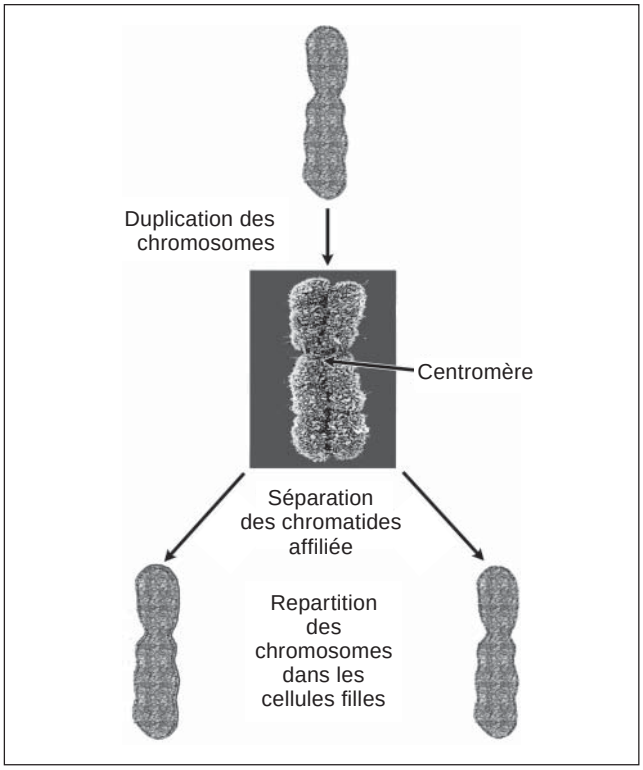

Figure 1. Répartition des chromosomes dans les cellules filles lors de la mitose

Pour toute la correspondance: Dr. Franz Binkert, MCL Laboratoires Médicaux SA, Freiburgstraße 634, CH-3172 Niederwangen, E-mail: franz.binkert@mcl.ch

For personal use only. Not to be reproduced without permission of Krause & Pachernegg GmbH.

deux spermatocytes secondaires, l'un contenant un chromosome dupliqué X et l'autre un chromosome Y.

Aucune phase de synthèse n'a lieu entre les deux divisions de la méiose. Durant la méiose II, les chromosomes dupliqués se séparent au niveau du centromère (aussi appelé kinétochore), comme dans la mitose. Chez la femme se constituent alors un ovule et un second globule polaire (le premier globule polaire peut éventuellement se diviser à nouveau) et, chez l'homme, 4 spermatides. Il ne reste donc plus qu'une seule copie de chaque chromosome. Le nombre normal de chromosomes est de 23.

Fréquence des aberrations chromosomiques de l'ovule fécondé à la naissance

On estime que chez la femme un ovule sur deux comporte une anomalie chromosomique. L'aneuploïdie (excès ou défaut de chromosomes dû à une répartition anormale des chromosomes) prédomine. Beaucoup d'avortements spontanés surviennent avant la nidification et passent en général quasiment ou totalement inaperçus. Seulement peu de grossesse arrivent à terme. Environ 15 % des grossesses aboutissent à un avortement spontané durant le premier trimestre. Près de 50 % ne présentent pas d'anomalies chromosomiques [1]. Les aberrations constatées sont en ordre décroissant la somme de toutes les trisomies autosomiques, mis à part la trisomie 16, le syndrome de Turner avec caryotype 45,X, les triploïdies (69 chromosomes) et d'autres aberrations. Avec l'avancement de la grossesse, les avortements spontanés dus aux aberrations chromosomiques deviennent plus rares. La fréquence des trisomies 13, 18 et 21 ainsi que le syndrome de Turner est drastiquement réduite pendant la grosse (fig. 3). L'aberration la plus fréquemment observée à la naissance, avec environ 1/650 naissances viables, est la trisomie 21 (syndrome de Down); les aberrations des chromosomes sexuels les plus fréquentes, avec 1/25'000 garçons, sont le syndrome de Klinefelter (47,XXY) et celui du double Y (47,XYY); enfin, l'aberration structurelle la plus fréquente, avec 1/50'000 cas, est le syndrome du cri du chat (5p-) (tableau 1).

Tableau 1. Fréquence de quelques aberrations chromosomiques à la naissance

Trisomie 21*	1/650
Trisomie 18*	1/5.000
Trisomie 13*	1/12.000
Syndrome de Turner	1 / 2.500 filles
Triple X (47,XXX)*	1/1.000 filles
Syndrome de Klinefelter (47,XXY)*	1/1.000 garçons
Syndrome du double Y (47,XYY)	1/1.000 garçons
Translocation balancée	1/500
Syndrome du cri du chat (5p-)	1/50.000
Hommes avec caryotype 46,XX	1/10.000 garçons

*dépend de l'âge de la mère

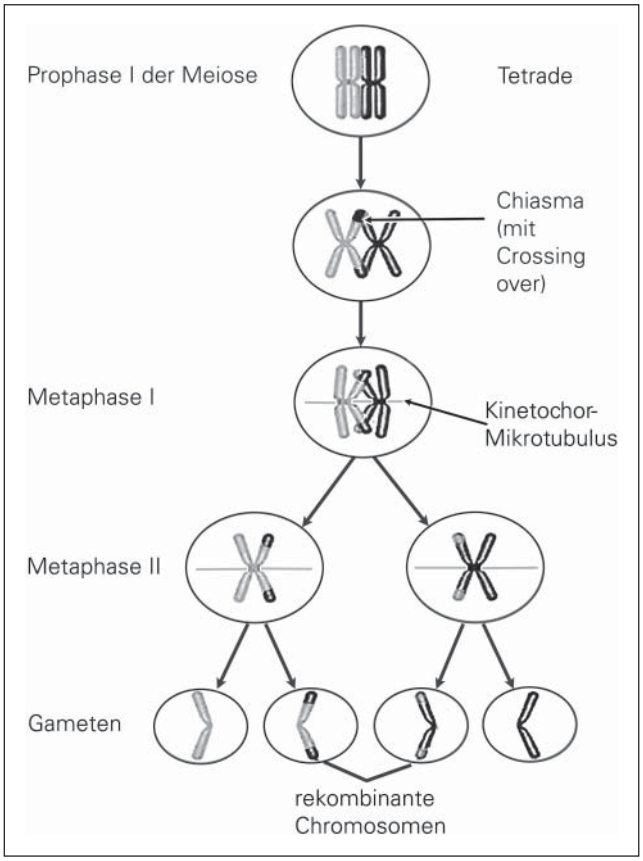

Figure 2. Répartition des chromosomes durant la seconde division de la méiose

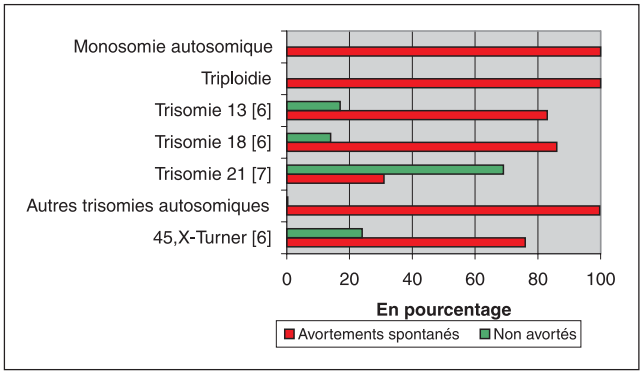

Figure 3. L'estimation des avortements spontanés entre la dixième semaine de grossesse et la naissance.

A quel moment les analyses cytogénétiques sont-elles possibles entre le début du traitement contre la stérilité et la naissance, et que recherche-t-on?

Diagnostic sur le premier globule polaire durant la méiose chez la femme

Après la stimulation hormonale, des ovocytes secondaires sont prélevés par ponction des follicules mûrs des ovaires afin d'effectuer la fécondation in vitro en laboratoire. Ces ovocytes ont déjà subi la première division réductionnelle de la méiose (fig. 4). La seconde cellule nouvellement formée, beaucoup plus petite, est un premier globule polaire (voir le chapitre sur la méiose ci-dessus). Ce globule polaire contient normalement chacun des 22 autosomes et l'un des chromosomes sexuels, tous constitués de deux chromatides reliées par un centromère. Il ne sera pas utile pour la poursuite de la fécondation et peut être prélevé au moyen d'une micromanipulation. Les méthodes classiques de cytogénétique ne peuvent être appliquées à l'analyse de ce globule polaire étant donné qu'il ne contient que peu de cytoplasme. La méthode de FISH est alors utilisée pour déterminer le nombre des chromosomes qui sont le plus souvent répartis de manière erronée et/ou comportent une anomalie à la naissance, à savoir les chromosomes 13, 16, 18, 21, 22, X et Y. Sur la base de ce résultat, il est possible d'établir la fréquence de ces chromosomes dans les ovocytes secondaires. Normalement, chaque cellule contient un chromosome dupliqué de tous les autosomes et un

chromosome sexuel. De cette façon il est possible d'éliminer les ovocytes anormaux. Désavantage: on ne peut déterminer que les erreurs de division qui ont lieu durant la méiose I féminine. Par conséquent, seuls les ¾ des trisomies 21 au maximum seront détectés.

Diagnostic supplémentaire sur le second globule polaire
Après la fécondation, le second globule polaire se forme durant la seconde division de la méiose. Comme le premier globule polaire, il peut être prélevé et analysé sans dommages pour l'ovule fécondé. En combinaison avec l'analyse du premier globule polaire, il est par exemple possible de détecter au maximum 85–90 % de toutes les trisomies 21. Les ovules fécondés comportant des aberrations peuvent ainsi être éliminés avant utilisation. Désavantage: on ne peut analyser la répartition anormale des chromosomes les plus souvent touchés que dans la lignée germinale de la mère. Les aberrations issues de la lignée germinale du père ou survenant lors de la fécondation ne peuvent pas être détectées. De plus, cette méthode diagnostique est très complexe et prend beaucoup de temps.

Examen au stade 6–8 cellules après la fécondation
1–2 des cellules encore pluripotentes sont prélevées par micromanipulation et analysées par la méthode de FISH, tout comme pour le diagnostic des globules polaires. L'avantage de cet examen par rapport au diagnostic des globules polaires tient au fait que l'on peut analyser directement des cellules issues des ovules fécondés avec succès à ce stade de développement et examiner aussi bien les anomalies de la lignée germinale masculine que celles apparues lors de la fécondation. La charge de travail est réduite et moins complexe. Désavantage: on ne peut détecter que partiellement les erreurs de répartition des chromosomes qui ont lieu dans la lignée somatique. Cet examen n'est pas permis dans la zone germanophone.

Choriocentèse, ou biopsie du placenta, de la 10e semaine de grossesse à la naissance
Des villosités choriales, c.-à-d. du placenta, sont prélevées au moyen d'une aiguille lors d'une ponction contrôlée par échographie. En laboratoire, les villosités sont nettoyées des tissus maternels et préparées. Elles proviennent de l'ovule fécondé, comme le fœtus. Dans des cultures dites directes ou à court terme, les cellules du cytotrophoblaste (enveloppe des villosités choriales) qui se divisent naturellement sont examinées sous 24 heures. Il est ainsi possible de détecter les répartitions anormales de tous les chromosomes, ainsi que beaucoup d'aberrations structurelles. Outre cette méthode rapide, les cellules mésenchymateuses qui remplissent les villosités sont mises en culture et, après 8 à 14 jours, préparées (culture à long terme). Les mitoses sont alors colorées et analysées. Ces cellules sont ensuite séparées des cellules qui forment le fœtus. Les mitoses sont qualitativement meilleures que les cytotrophoblastes et permettent également de reconnaître de plus petites aberrations structurelles. Dans les cas d'urgence, la méthode de FISH peut aussi être employée afin d'obtenir des analyses plus exactes. Désavantages: l'intervention invasive conduit à un risque supplémentaire d'avortement au moment de l'intervention de 0,5–1 % par rapport au risque naturel d'avortement spontané. Dans de très rares cas, le résultat de la choriocentèse ne correspond pas à l'état du fœtus si l'aberration survient quelques divisions mitotiques après la fécondation et ne concerne avant tout que les cellules qui formeront des structures embryonnaires ou extra-embryonnaires. De tels événements peuvent être évités grâce à de bonnes méthodes d'analyse et des contrôles par échographie.

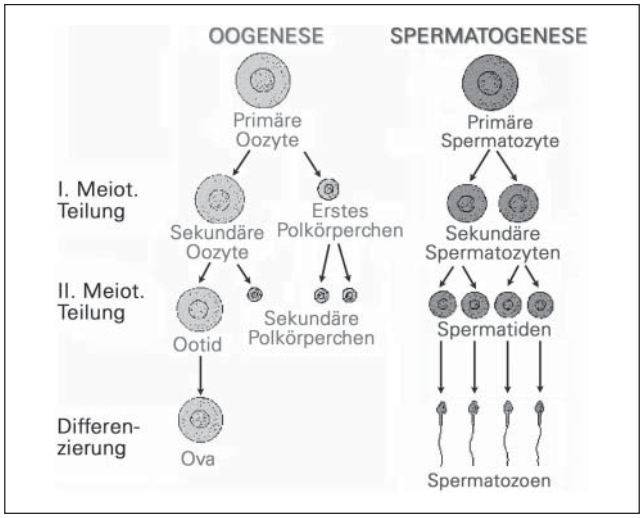

Figure 4. Méiose durant l'ovogenèse et la spermatogenèse

Test de dépistage au premier trimestre (entre les semaines 10+6 et 13+6 de grossesse) dans le sang de la mère à la recherche d'une trisomie 21 – bientôt également possible pour les trisomies 18 et 21.

Ce dépistage associe la mesure échographique de la longueur cranio-caudale et du pli de la nuque aux concentrations sériques de β-hCG libres et de PAPP-A. Sur un total de 5 % de grossesses présentant des anomalies chromosomiques, cette méthode permet de détecter environ 90 % des cas de syndrome de Down. Ce dépistage ne constitue pas un test génétique, mais permet d'exclure avec une forte probabilité un syndrome de Down – et bientôt aussi les trisomies 13 et 18 – chez seulement près de 95 % des femmes enceintes.

Amniocentèse de la 15e semaine de grossesse jusque tard dans la grossesse
Le gynécologue prélève 15–20 ml de liquide amniotique qui entoure la graisse. Dans ce liquide baignent des cellules vivantes et mortes provenant de la surface du fœtus, de son tractus uro-génital et de son espace bucco-pharyngé, ainsi que du cordon ombilical et de l'amnios qui entoure la poche des eaux. Quasiment toutes les cellules proviennent donc du fœtus même. Un test rapide, au moyen de la méthode de FISH, permet de déterminer en 24 heures la fréquence des chromosomes 13, 18, 21, X et Y dans les noyaux cellulaires en interphase. Une mise en culture peut également être réalisée qui permet, en l'espace de 10–14 jours, de déterminer le caryotype, le nombre et la structure des chromosomes. Comme les cellules en culture proviennent presque exclusivement du fœtus, les résultats représentent avec une quasi-certitude le fœtus lui-même. Désavantages: le diagnostic ne peut être obtenu que relativement tard dans la grossesse. Un avortement ne peut être effectué qu'en provoquant un accouchement prématuré. Le risque d'avortement spontané dû à l'intervention invasive est estimé à 0,5–1 %.

Ponction du cordon ombilical (cordocentèse)
Elle n'est possible qu'à partir de la 20e semaine de grossesse environ. Elle est rarement effectuée. L'indication est généralement l'existence d'une échographie anormale et la nécessité de prélever du sang fœtal de toute façon pour une autre raison. Les lymphocytes sont mis en culture 2–4

jours et les mitoses analysées en vue de déterminer les aberrations chromosomiques numéraires et structurelles. Désavantage: un résultat normal peut être obtenu par erreur en cas de mosaïques, car les lignées cellulaires anormales sont parfois éliminées du sang alors qu'elles restent présentes dans d'autres tissus.

Quand doit-on effectuer un examen cytogénétique avant un traitement contre la stérilité?

Couple avec deux fausses couches ou plus
Lorsqu'un examen cytogénétique est effectué chez les couples ayant vécu deux fausses couches ou plus, on observe dans 5% des cas une aberration chromosomique chez l'un des deux partenaires [2]. Il s'agit principalement d'une translocation (échange de fragments de chromosomes entre différents chromosomes), plus rarement d'une inversion (un fragment de chromosome est inséré à l'envers (rotation de 180 degrés) dans un chromosome). La figure 5 montre une translocation entre les chromosomes 7 et 10 observée lors de l'un de nos examens. Si un parent est porteur d'une translocation, la moitié des gamètes qui en résultent ne comporteront pas une copie de tous les gènes. Ceci conduit généralement après la fécondation de l'ovule à un avortement spontané avant ou après l'implantation.

Il est connu que lorsque le diagnostic prénatal est apparu, alors que l'âge représentait essentiellement la seule indication, des translocations apparemment balancées ont été constatées ça et là lors d'amniocentèses. En règle générale, l'un des parents était porteur de cette translocation. Comme les zygotes non balancés mourraient avant ou au moment de l'implantation, une grossesse avec chromosomes normaux ou balancés survenait par hasard seulement à un âge avancé.

Hommes avec azoospermie ou oligospermie non obstructive
De Braekeleer et Dao [3] ont montré en 1991 dans une revue détaillée que 12 % des hommes avec une oligospermie sévère (< 10 millions de spermatozoïdes/ml) ou une azoospermie présentaient une translocation ou une constitution de Klinefelter (47,XXY). Dans une prise de position publiée en 2005 par le groupe de travail sur la génétique de la reproduction de la Deutsche Gesellschaft für Reproduktionsmedizin (société allemande pour la médecine de la reproduction) [4], il a été indiqué que, déjà lors d'une oligozoospermie normale (< 20 millions de spermatozoïdes/ml), le taux d'aberrations chromosomiques est très élevé. Des examens simultanés des chromosomes chez la partenaire ont également montré un taux d'aberrations très élevé par rapport à la population normale. La cause n'a pas été définitivement élucidée. Il est possible que l'hypofertilité masculine combinée à une fertilité féminine moindre due aux aberrations chromosomiques conduise à l'infertilité. C'est pourquoi il est recommandé de toujours examiner également la femme lorsque ces conditions cliniques se présentent.

Examen du caryotype du couple avant une micro-injection intracytoplasmique de spermatozoïdes (ICSI; «Intra Cytoplasmic Sperm Injection»)
Cet examen est pratiqué de manières très différentes. Certains instituts examinent systématiquement tous les couples au préalable, d'autres n'entreprennent rien ou uniquement dans des situations particulières. Il faut tenir compte du fait que toutes les translocations ne mènent pas forcément à une oligospermie ou à une zoospermie chez l'homme. Dans notre société où la femme primipare est de plus en plus âgée, les signes d'une éventuelle translocation ou d'une autre aberration chromosomique ne sont souvent pas détectés à temps (sous la forme de fausses couches, etc.).

Les recommandations publiées par la Société européenne de génétique humaine (ESHG; «European Society of Human Genetics») et la Société européenne de reproduction humaine et d'embryologie (ESRE; «European Society for Human Reproduction and Embryology») en mai dernier [5] fournissent un bon aperçu de l'état de cette problématique complexe en ce qui concerne les aspects techniques, sociaux, éthiques et légaux en Europe.

Conclusions

Avant un traitement contre la stérilité
Après deux fausses couches ou plus, ou en cas d'oligospermie ou d'azoospermie non obstructive chez l'homme, les deux partenaires devraient subir un examen cytogénétique afin d'exclure toute aberration chromosomique comme cause de la stérilité.

Avant une ICSI, l'analyse chromosomique des deux partenaires est recommandée dans tous les cas.

Du prélèvement de l'ovule à l'implantation
Etant donné que le diagnostic préimplantatoire n'est pas autorisé dans la zone germanophone, seul un diagnostic du premier globule polaire et de chacun des seconds globules polaires après la fécondation de l'ovule est possible. Ce travail intensif et de longue haleine ne permet actuellement que le diagnostic d'une répartition anormale des chromosomes les plus importants pour le déroulement ultérieur de la grossesse durant la méiose chez la mère.

De l'implantation à la naissance
Un test de dépistage effectué au premier trimestre de la grossesse, entre les semaines 10+6 et 13+6, par échographie et détermination de marqueurs biochimiques dans le sang de la mère permet d'exclure avec une forte probabilité une trisomie 21. Il sera bientôt possible d'exclure également les trisomies 13 et 18 de la même façon.

En cas de besoin, une échographie et/ou une choriocentèse ou amniocentèse permettent d'exclure presque complètement la naissance d'un enfant présentant une aberration chromosomique.

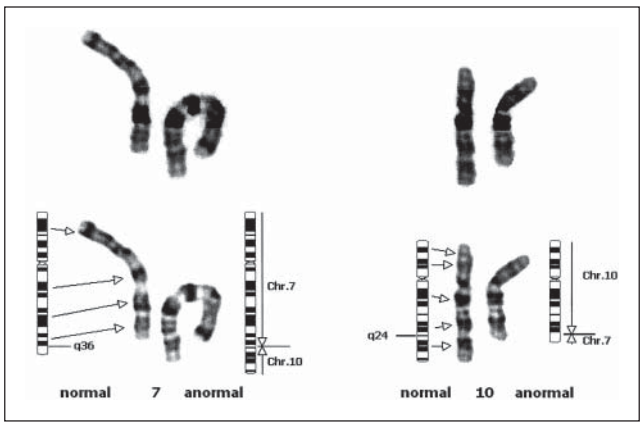

Figure 5. Translocation entre les chromosomes 7 et 10

References :
1. Kajii T, Ferrier A, Niikawa N, Takahara H, Ohama K, Avicharan S. Anatomic and chromosomal anomalies in 639 spontaneous abortuses. Hum Genet 1980; 55: 87–98.
2. De Braekeleer M, Dao TN. Cytogenetic studies in couples experiencing repeated pregnany losses. Hum Reprod 1990; 5: 519–28.
3. De Braekeleer M, Dao TN. Cytogenetic studies in male infertility. Hum Reprod 1991; 6: 245–50.
4. Ludwig M, Gromoll J, Hehr U, Wieacker P. Stellungnahme der Arbeitsgemeinschaft Reproduktionsgenetik der Deutschen Gesellschaft für Reproduktionsmedizin: Empfehlung zur genetischen Diagnostik bei Kinderwunschpaaren. J Reproduktionsmed Endokrinol 2004; 1: 190–3.
5. Soini S, Ibarreta D, Anastasiadou V, Aymé S, Braga S, Cornel M, Coviello DA, Evers-Kiebooms G, Geraedts J, Gianaroli L, Harper J, Kosztolanyi G, Lundin K, Rodrigues-Cerezo E, Sermon K, Sequeiros J, Tranebjaerg L, Kääriäinen H on behalf of ESHG and ESHRE. The interface between assisted reproductive technologies and genetics: technical, social, ethical and legal issues. Eur J Hum Genet 2006; 14: 588–645.
6. Snijders RJM, Sebire NJ, Nicolaides KH. Maternal age and gestational age-specific risk for chromosomal defects. Fetal Diagn Ther 1995; 10: 356–67.
7. Spencer K. What is the true fetal loss rate in pregnancies affected by trisomy 21 and how does this influence whether first trimester detection rates are superior to those in in the second trimester? Prenat Diagn 2001; 21: 788–9.

Franz Binkert, Dr phil II

1978 Doctorat à l'Université de Zürich (Dr phil. II). Thèse sur la recherche en mutagenèse. 1980–1983 Visiting Fellow au National Institute of Environmental Health Sciences, Research Triangle Park, USA. 1983–2001 Chef du laboratoire de cytogénétique occupant 6 à 8 laborantines à l'Institut de génétique médicale de l'Université de Zürich. 1996–2000 Secrétaire et trésorier de la Société suisse de génétique médicale (SSGM) ; Président de la commission d'experts «Contrôle de qualité des laboratoires d'analyses de génétique médicale» de la SSGM. 1997–2001 Représentant externe de l'Institut de génétique médicale de l'Université de Zürich, délégué de la Suisse pour l'élaboration de directives européennes en matière de diagnostic prénatal. 2000 Diplôme de «Spécialiste FAMH en analyses de génétique médicale». Depuis 2000 Membre de la commission d'experts de la FAMH. Depuis 2001 Délégué suppléant de la génétique médicale et coordinateur du contrôle de qualité cytogénétique mandaté par la QUALAB. Depuis 2002 Chef du laboratoire de cytogénétique des MCL Laboratoires Médicaux. Depuis 2003 Porte parole de Génétique médicale aux comité d'experts de FAMH.

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**