

4 Fertilitätsprävention

Sabine Kliesch

Bei allen Formen onkologischer oder systemischer Therapien, die potenziell die Gonadenfunktion irreversibel schädigen können, stellt sich für den Patienten im reproduktionsfähigen Alter die Frage nach den Möglichkeiten der Fertilitätsprävention. Aktuell besteht auf männlicher Seite die effektive Form der Fertilitätsprävention in der *Kryokonservierung von ejakulierten oder testikulären Spermien*, die dann Verwendung in der assistierten Reproduktion finden können. Zur Einschätzung der Samenqualität ist die standardisierte Beurteilung der Samenprobe nach den Kriterien der WHO (2010) zu empfehlen. Die *Transplantation von testikulären Stammzellen* bzw. die aus ihnen generierten Samenzellen stellen bislang die einzige, allerdings noch rein experimentelle Option für präpubertär onkologisch erkrankte Jungen dar, um deren Fertilitätspotenzial zu erhalten.

4.1 Indikation zur Kryokonservierung von Spermien

Multimodale onkologische Therapiekonzepte können zu einer dauerhaften Einschränkung der männlichen Fertilität führen. Aber auch die Behandlung benigner Erkrankungen (rheumatoide Arthritis, Morbus Crohn, Colitis ulcerosa oder Organtransplantationen) geht mit gonadal toxischen Medikationen einher. Im Falle einer Vasektomie kann im Vorfeld eine Kryokonservierung als Absicherung bei einer späteren Änderung des Sterilisationswunsches erfolgen. Darüber hinaus wird die Kryokonservierung von Spermien bei Querschnittsgelähmten und Patienten mit anderen Formen der neurologischen Ejakulationsstörung angewendet (Übersicht bei Kliesch et al. 2009).

Die Kryokonservierung von Spermien kann dazu beitragen, den häufig jungen Patienten in einer kritischen oder lebensbedrohlichen Situation Stabilisierung und Hoffnung zu geben. Bei Jugendlichen (im Alter von 12–21 Jahren bei Diagnosestellung) konnte gezeigt werden, dass eine erfolgreiche Kryokonservierung bei 67% der Betroffenen die Ängste im Hinblick auf Fertilitätsaspekte signifikant mindert. Des Weiteren sind Diskussionen in Hinblick auf die Fertilität leichter nach erfolgreicher Kryokonservierung zu führen (Edge et al. 2006), und der Umgang mit der lebensbedroh-

Tab. 1 Indikationen zur Ejakulatcryokonservierung (1.501 Patienten der Klinischen Andrologie des Centrums für Reproduktionsmedizin und Andrologie der Universität Münster, Stand 9/2011, modifiziert nach Kliesch et al. 2009, mit freundlicher Genehmigung von Springer Science and Business Media)

Diagnosen	Patientenzahl (%)
Hodentumor	595 (40)
Hodgkin-/Non-Hodgkin-Lymphom	220 (15)
Leukämien	115 (8)
Knochentumoren	112 (7)
andere Malignome	258 (17)
benigne Erkrankungen	201 (13)

lichen Erkrankung wird ebenfalls verbessert (Saito et al. 2005). Bis heute sind allerdings nur rund zwei Drittel der erwachsenen Patienten über das Risiko einer gonadentoxischen Therapie informiert und nur der Hälfte der Betroffenen wird die Möglichkeit einer Kryokonservierung ihrer Samenzellen angeboten.

Die meisten Männer, die sich für eine Kryokonservierung von Spermien entscheiden, sind Patienten, bei denen ein Malignom diagnostiziert wurde, die Dignität ihrer Erkrankung noch unklar ist und die sich einer potenziell fertilitätsschädigenden Therapie unterziehen müssen (s. Tab. 1).

4.2 Onkologische Erkrankungen bei Erwachsenen

Die Auswirkungen einer onkologischen Therapie, insbesondere Langzeittoxizität und Spätfolgen, gewinnen bei verbesserten Überlebensraten immer mehr an Bedeutung.

Maligne Erkrankungen treten oftmals zu einem Zeitpunkt auf, an dem die Familienplanung des Patienten noch nicht abgeschlossen ist bei gleichzeitig hohem Stellenwert der reproduktiven Funktion bei der späteren Lebensqualität. Von den in Tabelle 1 zusammengestellten 1.136 Patienten (mittleres Alter 28 Jahre) waren lediglich 24% verheiratet und nur 10% waren bereits Väter zu Beginn der Erkrankung. Das Ausmaß der Gonadenschädigung und das Erholungspotenzial der Spermatogenese sind individuell und in Abhängigkeit von der Therapieintensität sehr unterschiedlich (Kliesch et al. 1996, 2009; Palmieri et al. 1996).

Einen effektiven Schutz im Sinne einer echten Prävention vor dem gonadentoxischen Einfluss einer solchen Behandlung gibt es bislang nicht (Kamischke et al. 2003). Die retrograde Ejakulation (nach retroperitonealer Lymphadenektomie) kann versuchsweise medikamentös behandelt werden. Bei einer Impotentia generandi nach Radikaloperationen (Prostatektomie, Zystoprostatektomie, Rektumexenteration) ist hingegen eine testikuläre Spermienextraktion (TESE) die einzige Therapieoption.

Bei malignen Erkrankungen sind bereits prätherapeutische Einschränkungen der Hodenfunktion bekannt, obgleich die Mechanismen, die zur Beeinträchtigung durch die Grunderkrankung führen, nicht geklärt sind (Hansen et al. 1991; Viviani et al. 1991). Im eigenen Patientengut zeigt sich eine Oligozoospermie bis hin zur Krypto-

Tab. 2 Samenqualität bei Patienten mit Hodentumor oder Hodgkin-Lymphom

Ejakulatparameter (nach WHO)	Hodentumor (n = 563) (Kliesch, unpubliziert, CeRA, UK Münster)	Hodgkin-Lymphom (n = 474) (van der Kaaij et al. 2009)
Normozoospermie	25%	41%
OAT-Syndrom	56%	56%
Azoospermie (Anejakulation)	14% (5%)	3%

zoospermie (WHO-Nomenklatur 1999) bei 43–63% der Patienten bereits zum Zeitpunkt der Kryokonservierung. Eine Azoospermie ist bei bis zu 14% der Hodentumorpatienten zum Zeitpunkt der Diagnosestellung zu beobachten (s. Tab. 2).

Insbesondere die Spermienmotilität wird durch den Kryokonservierungsvorgang beeinträchtigt. Es zeigt sich eine Verschlechterung der Progressivmotilität nach dem probeweisen Auftauen eines kryokonservierten Aliquots von initial 40% mittlere Progressivmotilität auf noch 21% unabhängig von der zugrunde liegenden Erkrankung oder dem Alter der Patienten (Keck u. Nieschlag 1993; Kliesch et al. 1996). Je höher die Spermienmotilität vor dem Einfrieren ist, umso besser ist tendenziell die Auftaumotilität. Die Motilität wird als Maß der Vitalität der Spermien angesehen. Allerdings spielt diese für die Mikroinjektionsbehandlung (intracytoplasmatische Spermieninjektion, ICSI) heutzutage eine untergeordnete Rolle, da mit Hilfe der Lasertechnologie zwischen immotilen vitalen und immotilen avitalen Spermatozoen differenziert werden kann.

4.3 Onkologische Erkrankungen bei Kindern und Jugendlichen (Adoleszenten)

Die Überlebenschancen junger Patienten mit einer onkologischen Erkrankung sind durch frühzeitige Erkennung und verbesserte Therapiekonzepte deutlich gestiegen.

Eine Kryokonservierung von Spermien sollte deshalb bereits Jugendlichen, die in der Pubertätsentwicklung sind, angeboten werden. 86% (205/238) der Adoleszenten können eine Samenprobe gewinnen (Bahadur et al. 2002). Das Hodenvolumen *im niedrigen bis subnormalen Erwachsenenbereich* darf als ein positiver Prädiktor für eine erfolgreiche Spermatogenese angesehen werden. Adoleszente Jungen weisen im Vergleich zu erwachsenen Patienten unabhängig von der Grunderkrankung vergleichbare Ejakulatparameter bei der Kryokonservierung auf (s. Tab. 3) (Kliesch et al. 1996; Kamischke et al. 2004).

Obgleich viele Chemotherapieprotokolle nebenwirkungsärmer geworden sind, bleibt eine Prognose bezüglich der gonadalen Toxizität und die entsprechenden Langzeitauswirkungen auf die Fertilität schwierig. Persistierende Azoospermien sind bei bis zu 16% der jugendlichen Patienten auch ohne Einsatz alkylrierender Substanzen (z. B. Adriamycin, Vincristin, Methotrexat) zu beobachten. Nach cisplatinhaltigen Chemotherapien werden Azoospermien im Mittel bei 37% der geheilten Patienten beobachtet. Am höchsten ist das Risiko einer Infertilität im Erwachsenenalter (68%), wenn



Tab. 3 Ejakulatparameter von Jugendlichen und Erwachsenen zum Zeitpunkt der Kryokonservierung

	Alter (Jahre)	Spermienkonzentra- tion (mill./ml)	Progressivmotilität (%)	Kryokonservierung durchführbar (%)
Jugendliche (n = 111)	14–20	48 ± 18	48 ± 5	96
Erwachsene (n = 740)	20–39	34 ± 6	50 ± 3	88

alkylierende Substanzen (z.B. Cyclophosphamid oder Procarbazin) beim Jugendlichen verwendet werden müssen (Jahnukainen et al. 2011, Kliesch et al. 1996). Inwieweit sich in den kommenden Jahren die Möglichkeit eröffnet, bei präpubertären Patienten vor Beginn einer onkologischen Therapie gonadales Gewebe mit dem Ziel zu entnehmen, es nach abgeschlossener Therapie und überstandener Krankheit zu retransplantieren, wird sich erst anhand der weiteren Entwicklung experimenteller Ansätze zur Keimzelltransplantation abzeichnen (Übersicht bei Bahadur u. Ralph 1999; Schlatt et al. 1999; Gassei u. Schlatt 2009; Jahnukainen et al. 2011). Die Fortschritte auf diesem Gebiet sind groß, die experimentellen Ansätze aber noch nicht beim Menschen validiert.



Der Aspekt der Spermienkryokonservierung als Präventivmaßnahme im Hinblick auf die die Lebensqualität beeinflussende Familienplanung nach überstandener Grunderkrankung muss bei der Aufklärung dieser sehr jungen Patienten und ihrer Eltern vor Durchführung einer potenziell gonadentoxischen Therapie Berücksichtigung finden.

4.4 Die (mikrochirurgische) TESE einschließlich Onko-TESE als Fertilitätsprävention

Bei Patienten mit Kryptozoospermie oder Azoospermie können mittels testikulärer Spermienextraktion (TESE) Spermien kryokonserviert und für eine spätere ICSI-Behandlung verwendet werden. Die mikrochirurgisch durchgeführte TESE scheint nach den bisher publizierten Daten eine zusätzliche Verbesserung der Spermienausbeute zu bringen (Ramasamy et al. 2009; Colpi et al. 2009).

Dies gilt auch für onkologische Patienten, sowohl prätherapeutisch als auch – mit verringerten Erfolgszahlen – posttherapeutisch. Diese Onko-TESE ist besonders bei Patienten mit uni- oder bilateralen Hodentumoren sowie mit Azoospermie vor oder nach gonadentoxischer Therapie ohne ein ausreichend vorhandenes Kryokonservierungsdepot sinnvoll anwendbar (s. Tab. 4). Sobald bei Diagnose einer Erkrankung eine Azoospermie diagnostiziert und die erforderlichen Therapiemodalitäten diskutiert wurden, sollte die Onko-TESE in spezialisierten Zentren durchgeführt werden. Langzeitüberlebenden onkologischer Erkrankungen, die eine Azoospermie aufweisen, kann ebenfalls die Onko-TESE als Option für eine spätere Vaterschaft angeboten werden (Schrader et al. 2003) (s. Tab. 4).

Tab. 4 Onko-TESE-Ergebnisse bei onkologischen Patienten vor Beginn oder nach Abschluss der Therapie (74 Patienten, 1989 bis 2009, Klinische Andrologie des Centrums für Reproduktionsmedizin und Andrologie Münster)

	Keimzelltumor Prätherapeutische TESE (n = 32)	Keimzelltumor Posttherapeutische TESE (n = 20)	andere Malignität Prätherapeutische TESE (n = 3)	andere Malignität Posttherapeutische TESE (n = 19)
TESE mit Spermien- nachweis positiv	53%	70%	67%	21%

4.5 Lagerung der Samenproben

Bei der langfristigen Lagerung der Samenproben muss gewährleistet werden, dass neben der perfekten Probenidentifikation und entsprechenden Sicherheitsvorkehrungen die konstante Lagerungstemperatur von optimal -170°C bis -190°C nicht überschritten wird. Für die langfristige Lagerung der Spermienproben wird mit dem jeweiligen Labor oder der Kryobank ein Lagerungsvertrag abgeschlossen, der z.B. jährlich verlängert werden kann. Die Kosten trägt in der Regel der Patient. Ausnahmeregelungen zur Kostenübernahme durch die Krankenkassen sind selten, aber möglich. Soll die Samenprobe für eine assistierte Fertilisation verwendet werden, so kann das Samendepot auf Veranlassung des Patienten bei der Kryobank abgerufen und zu dem jeweils behandelnden Arzt geschickt werden. Die gesetzlichen Vorgaben sind jeweils zu beachten.

4.6 Auftauen der Samenproben

Optimale Einfrier- und Auftaugeschwindigkeiten können das Risiko der Zellschrumpfung, hydropische Zellveränderungen und Eiskristallbildung vermindern helfen und sollten aufeinander abgestimmt werden (Leibo et al. 2002). Hierzu kann eine programmierbare, vollautomatische Gefriereinheit benutzt werden, welche analog dem Einfrierprozess die Spermien bei Raumtemperatur oder in einem 37°C warmen Wasserbad auftaut. Nach Durchführung der Kryokonservierung ist es empfehlenswert, ein kleines Aliquot der Probe wieder aufzutauen und die Spermienmotilität zu analysieren, da diese Information für den späteren Einsatz der Kryoprobe im Rahmen einer Fertilisationsbehandlung von Bedeutung ist. Eine Entfernung des Kryoprotektivums durch sequentielle Verdünnung in kleinen Volumenschritten kann einen übermäßigen osmotischen Druck (Gao et al. 1997) verhindern und die Schwangerschaftsrate verbessern.

4.7 Qualität der gelagerten kryokonservierten Samenproben

Aufgrund des Umstandes, dass viele Patienten sich nach Diagnosestellung und nach erfolgter Kryokonservierung zunächst einer aggressiven Chemo- und Radiotherapie unterziehen, ist mit aktivem Kinderwunsch meistens erst nach einer längeren Zeitspanne zu rechnen. Es ist wahrscheinlich, dass zumindest eine Zeitspanne von 4–5 Jahren vergeht, bis diese Patienten ihren kryokonservierten Samen für

eine assistierte Fertilisation benutzen. Unter adäquaten Bedingungen gelagerte Samenproben zeigen keine ersichtliche Minderung der Samenqualität im Verlauf der Zeit. Zudem sind Kinder zur Welt gekommen, die mit Spermien gezeugt wurden, die länger als 28 Jahre kryokonserviert waren (Clarke et al. 2006; Feldschuh et al. 2005).

4.8 Verwendung kryokonservierter Spermien für die assistierte Reproduktion

Die Verwendung kryokonservierter Spermien im Rahmen von Methoden der assistierten Fertilisation hat in den letzten Jahren erheblich an Bedeutung gewonnen.

Die Aussagen über die Spermienqualität der für die assistierte Fertilisation verwendeten kryokonservierten Samenproben sind sehr heterogen. Unsere eigenen Daten zeigen, dass von den Patienten, die ihr Depot langfristig aufrechterhalten, 14% eine aktive Kinderwunschbehandlung durchführen. Insgesamt 69% der Patienten unseres Centrums lagern ihre Depots langfristig. In einer retrospektiven Studie wurden 455 Patienten mit einer Langzeitlagerung ihrer Samenzellen per Fragebogen über ihr Kryokonservierungsdepot befragt. 201 Fragebögen wurden ausgefüllt. Im Mittel von 4,1 Jahren (Zeitspanne von 0–12 Jahren) haben 8% der Patienten ihr Kryokonservierungsdepot für eine Behandlung im Rahmen einer assistierten Reproduktion abgerufen. Insgesamt sind bei den Patienten 33 Schwangerschaften eingetreten, von denen 5 mit Fehlgeburten endeten (Kliesch et al. 2009). Die Verwendung der Mikroinjektionstechnik hat dazu beigetragen, dass eine erfolgreiche Verwendung der Samendepots onkologisch erkrankter Patienten möglich ist.

4.9 Genetisches Risiko der Kryokonservierung

Die Frage nach einem möglichen genetischen Risiko für die Nachkommen von Tumorpatienten und bei Patienten, die aus anderen Gründen eine systemische Therapie erhalten, sind unverändert schwierig zu beantworten, denn systematische prospektive Studien gibt es nicht. Grundsätzlich gibt es zwei wichtige Aspekte zu unterscheiden. Zum einen das genetische Risiko, das auf der malignen Grunderkrankung an sich und der potenziell mutagenen Therapie beruht, zum anderen das genetische Erkrankungsrisiko für das mit Hilfe der assistierten Befruchtung unter Verwendung kryokonservierter Spermien gezeugte Kind.

Die vorliegenden zytogenetischen Untersuchungen an Spermien von Patienten, die nach einer vorausgegangenen Chemo- oder Radiotherapie durchgeführt wurden, zeigen einen signifikant erhöhten Anteil von strukturellen Anomalien bei den untersuchten Patienten im Vergleich zu einem Kontrollkollektiv (Genescà et al. 1990; Rousseaux et al. 1993). Für diese durch In-vitro-Experimente gewonnenen Daten liegen keine klinischen Untersuchungen vor, die auf eine daraus resultierende erhöhte Missbildungsrate der Kinder hinweisen. Für den klinischen Aspekt eines potenziell genetischen Risikos gibt es keine prospektiven Fallkontrollstudien, die helfen, die bestehenden Fragen schlüssig zu beantworten. Jedoch liegen Daten vor, die zum einen aus der Dokumentation der IVF-Zentren resultieren und zum anderen aus Nachuntersuchungen onkologischer Patienten stammen.



Die Daten der IVF-Zentren und Daten von Nachkommen onkologischer Patienten erlauben den Schluss, dass kein erhöhtes genetisches und Fehlbildungsrisiko besteht, das entweder mit der zugrunde liegenden Erkrankung oder mit der künstlichen Befruchtung unter Verwendung der kryokonservierten Spermien bei onkologisch erkrankten Patienten verbunden ist (Sanger et al. 1992; Dodds et al. 1993; Rufat et al. 1994; Schenker u. Ezra 1994).

4.10 Ethische Überlegungen

Es besteht durchaus der Bedarf an einer Diskussion ethischer Fragen. Mit der Anlage eines Kryospermadepts bleibt die Zeugungsfähigkeit auch eines Mannes erhalten, der im Sterben liegt. Im Todesfall ist die Vernichtung des Samendepots in Deutschland gesetzlich geregelt. Die Verwendung der Samenproben bei einem nicht heilbar Kranken stellt sowohl den Arzt als auch den Patienten und seine Partnerin vor ein Problem, für das keine klare Regelung vorliegt.

Die Kryokonservierung von Spermien stellt eine präventive, prätherapeutische Maßnahme vor einer gonadentoxischen Therapie bei (onkologisch) erkrankten Patienten dar, mit der die Fortpflanzungsfunktion erhalten werden kann. Bei Fehlen von Spermien im Ejakulat oder einer Anejakulation können operativ testikuläre Spermien gewonnen und kryokonserviert werden. In Kombination mit Verfahren der assistierten Reproduktion können die kryokonservierten Spermien sowohl aus dem Ejakulat als auch aus dem Hodengewebe zur Erfüllung des Kinderwunsches verwendet werden.

4.11 Zukunftsperspektiven

Möglicherweise wird es zukünftig gelingen, den Fertilitätserhalt auch auf präpubertäre Kinder mit onkologischen Erkrankungen erfolgversprechend zu erweitern, indem prätherapeutisch mittels kleiner Hodenbiopsate testikuläre Stammzellen kryokonserviert werden. Voraussetzung hierfür ist die Weiterentwicklung der tierexperimentell bereits erfolgreichen Keimzelltransplantation, der Autotransplantation von Hodengewebe oder auch der In-vitro-Spermatogenese zur extrakorporalen Gewinnung von Spermien (Gassei u. Schlatt 2009; Jahnukainen et al. 2011; Levine et al. 2010).

Literatur

- Bahadur G, Ralph D (1999) Gonadal tissue cryopreservation in boys with paediatric cancers. *Hum Reprod* 14, 11–17
- Bahadur G, Ling KL, Hart R, Ralph D, Wafa R, Ashraf A, Jama H, Mahmud S, Oyede AW (2002) Semen quality and cryopreservation in adolescent cancer patients. *Hum Reprod* 17, 3157–3161
- Clarke GN, Liu DY, Baker HWG (2006) Recovery of human sperm motility and ability to interact with the human zona pellucida after more than 28 years of storage in liquid nitrogen. *Fertil Steril* 86, 721–722
- Colpi GM, Colpi EM, Piediferro G, Giacchetta D, Gazzano G, Castiglioni FM, Magli MC, Gianaroli L (2009) Microsurgical TESE versus conventional TESE for ICSI in non-obstructive azoospermia: a randomized controlled study. *Reprod Biomed Online* 18, 315–319
- Dodds L, Marrett LD, Tomkins DJ, Green B, Sherman G (1993) Case-control study of congenital anomalies in children of cancer patients. *Brit Med J* 307, 164–168

- Edge B, Holmes D, Makin G (2006) Sperm banking in adolescent cancer patients. *Arch Dis Child* 91, 149–152
- Feldschuh J, Brassel J, Durso N, Levine A (2005) Successful sperm storage for 28 years. *Fertil Steril* 84, 1017
- Gao D, Mazur P, Critser JK (1997) Fundamental cryobiology of mammalian spermatozoa. In: Karow AM, Critser JD (eds.) *Reproductive Tissue Banking*. S. 263–328. Academic Press, San Diego
- Gassei K, Schlatt S (2009) Konservierung der männlichen Fertilität – klinische und experimentelle Methoden. *J Reprod Med Endocrinol* 6, 93–98
- Genescà A, Benet J, Caballín MR, Miró R, Germa JR, Egozcue J (1990) Significance of structural chromosome aberrations in human sperm: analysis of induced aberrations. *Hum Gen* 85, 495–499
- Hansen PV, Glavind K, Panduro J, Pedersen M (1991) Paternity in patients with testicular germ cell cancer: pre-treatment and post-treatment findings. *Eur J Cancer* 27, 1385–1389
- Jahnukainen K, Ehmkc J, Hou M, Schlatt S (2011) Testicular function and fertility preservation in male cancer. *Best Practice & Research Clin Endocrinol Metab* 25, 287–302
- Kamischke A, Kuhlmann M, Weinbauer GF, Luetjens M, Yeung CH, Kronholz HL, Nieschlag E (2003) Gonadal protection from radiation by GnRH antagonist or rhFSH: A controlled trial in the male nonhuman primate (*Macaca Fascicularis*). *J Endocrinol* 179, 183–194
- Kamischke A, Jürgens H, Hertle L, Berdel WE, Nieschlag E (2004) Cryopreservation of semen from adolescents and adults with malignancies. *J Androl* 25, 586–592
- Keck C, Nieschlag E (1993) Kryokonservierung von Spermien als Zeugungsreserve für onkologische Patienten. *Internist* 34, 775–780
- Kliesch S, Behre HM, Jürgens H, Nieschlag E (1996) Cryopreservation of semen from adolescent patients with malignancies. *Med Ped Oncol* 26, 20–27
- Kliesch S, Kamischke A, Cooper TG, Nieschlag E (2009) Kryokonservierung menschlicher Spermien zur Zeugungsreserve. In: Nieschlag E, Behre HM, Nieschlag S (Hrsg.) *Andrologie: Grundlagen und Klinik der reproduktiven Gesundheit des Mannes*. 3. Aufl., Springer, Berlin, Heidelberg, 515–531
- Leibo SP, Picton HM, Gosden RG (2002) Cryopreservation of human spermatozoa. In: Vayena E, Rowe PJ, Griffin PD (eds.) *Current Practices and Controversies in Assisted Reproduction*. World Health Organization, Geneva, S. 152–165
- Levine J, Canada A, Stern CJ (2010) Fertility preservation in adolescents and young adults with cancer. *J Clinical Oncology* 28, 4831–4841
- Palmieri G, Lotrecchiano G, Ricci G, Spiezia R, Lombardi G, Bianco AR, Torino G (1996) Gonadal function after multimodality treatment in men with testicular germ cell cancer. *Eur J Endocrinol* 134, 431–436
- Ramasamy R, Lin K, Veeck Gosden L, Rosenwaks Z, Palermo GD, Schlegel PN (2009) High serum FSH levels in men with nonobstructive azoospermia does not affect success of microdissection testicular sperm extraction. *Fertil Steril* 92, 590–593
- Rousseaux S, Sèle B, Cozzi J, Chevret E (1993) Immediate rearrangement of human sperm chromosomes following in-vivo irradiation. *Hum Reprod* 8, 903–907
- Rufat P, Olivennes F, de Mouzon J, Dhean M, Frydman R (1994) Task force report on the outcome of pregnancies and children conceived by in vitro fertilization (France: 1987 to 1989). *Fertil Steril* 61, 324–330
- Saito K, Suzuki K, Iwasaki A, Yumura Y, Kubota Y (2005) Sperm cryopreservation before cancer chemotherapy helps in the emotional battle against cancer. *Cancer* 104, 521–524
- Sanger WG, Olson JH, Sherman JK (1992) Semen cryobanking for men with cancer – criteria change. *Fertil Steril* 58, 1024–1027
- Schenker JG, Ezra Y (1994) Complications of assisted reproductive techniques. *Fertil Steril* 61, 411–422
- Schlatt S, Rosiepen G, Weinbauer GF, Rolf C, Brook PE, Nieschlag E (1999) Germ cell transfer into rat, bovine, monkey and human testes. *Hum Reprod* 14, 144–150
- Schrader M, Müller M, Sofikitis N, Straub B, Krause H, Miller K (2003) „Onco-tese“: testicular sperm extraction in azoospermic cancer patients before chemotherapy – new guidelines? *Urology* 61, 421–425
- van der Kaaij MA, Heutte N, van Echten-Arends J, Raemaekers JM, Carde P, Noordijk EM, Fermé C, Thomas J, Eghbali H, Brice P, Bonmati C, Henry-Amar M, Kluin-Nelemans HC (2009) Sperm quality before treatment in patients with early stage Hodgkin's lymphoma enrolled in EORTC-GELA Lymphoma Group trials. *Haematologica* 94, 1691–1697
- Viviani S, Ragni G, Santoro A, Perotti L, Caccamo E, Negretti E, Valagussa P, Bonadonna G (1991) Testicular dysfunction in Hodgkin's disease before and after treatment. *Eur J Cancer* 27, 1389–1392

WHO (1999) WHO Laborhandbuch zur Untersuchung des menschlichen Ejakulates und der Spermien-Zervikalschleim-Interaktion. 4. Aufl., Springer, Heidelberg

World Health Organization (2010) WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen, 5th ed. http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241547789_eng.pdf, abgerufen am 26.09.2011