

Journal für

Reproduktionsmedizin und Endokrinologie

– Journal of Reproductive Medicine and Endocrinology –

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



Konservierung der männlichen Fertilität

Gassei K, Schlatt S

J. Reproduktionsmed. Endokrinol 2009; 6 (3), 93-98

www.kup.at/repromedizin

Online-Datenbank mit Autoren- und Stichwortsuche

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

Indexed in EMBASE/Excerpta Medica/Scopus

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

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](#)

Konservierung der männlichen Fertilität – Klinische und experimentelle Methoden

K. Gassei¹, St. Schlatt²

Gängige Therapieansätze zur Behandlung von Krebserkrankungen können die Spermatogenese auf unterschiedlichsten Wegen stören und zu temporärer Azoospermie oder Sterilität führen. Die Unfruchtbarkeit ist eine ernstzunehmende Langzeitnebenwirkung, die die Lebensqualität des Patienten nachhaltig einschränken kann. Bei Kinderwunsch nach erfolgreicher Krebstherapie steht erwachsenen Patienten heute ein Anzahl an assistierten Reproduktionstechniken (ART) wie In-vitro-Fertilisation (IVF) oder Intrazytoplasmatischer Spermieninjektion (ICSI) zur Verfügung, die mithilfe von kryokonservierten Spermien durchgeführt werden können. Diese Methoden können jedoch die natürliche Fertilität des Patienten nicht wiederherstellen und sind für präpubertäre Krebspatienten ungeeignet, da diese vor Beginn der Chemo- oder Radiotherapie keine Samenprobe liefern können. Die Transplantation von testikulären Stammzellen bietet daher einen möglichen Therapieansatz zur Behandlung von Unfruchtbarkeit. Methoden zur Isolierung, Konservierung, Transplantation und In-vitro-Maturierung dieser Zellen befinden sich zur Zeit in der Entwicklung. Der vorliegende Beitrag diskutiert etablierte Methoden zur Fertilitätskonservierung bei Männern und gibt darüber hinaus einen Überblick über die neuesten Forschungsergebnisse zur Keimzelltransplantation und extrakorporalen Generierung von Keimzellen.

Schlüsselwörter: Gonadotoxische Krebstherapie, Unfruchtbarkeit bei Männern, Fertilitätskonservierung, Keimzelltransplantation, Spermatogenese

Conservation of Male Fertility – Clinical and Experimental Methods. Current oncological treatment regimens can disturb spermatogenesis, leading to temporary azoospermia or sterility. Thus, infertility is a long-term side effect that can severely decrease the life quality of the cancer survivor. A range of assisted reproductive techniques (ART) is available for the adult cancer survivor with the wish to father children, provided that a semen sample was cryopreserved prior to chemotherapy. This sample can then be used for in vitro fertilization (IVF) or intracytoplasmic sperm injection (ICSI). However, these methods do not restore fertility, and they are not an option for prepubertal cancer patients who are not able to give a semen sample. New methods for the isolation and conservation of germ cells, and for the transplantation of testicular stem cells are promising approaches that have been developed in recent years. Improved oncological treatments, leading to a significant increase in survival rates over the past two decades, require oncologists to intensify the discussion and evaluation of possible long-term effects of cancer therapies that may decrease the life quality of pediatric and adolescent patients, as it is well known that chemotherapeutic agents and radiotherapy are detrimental to male and female fertility. This report gives an overview of the available fertility preserving strategies for male patients that are routinely used to date. Furthermore, new research on germ cell transplantation and extracorporeal generation of male gametes as future options for fertility preservation will be presented, and the risks and limitations of these procedures for clinical applications will be discussed. **J Reproduktionsmed Endokrinol 2009; 6 (3): 93–8.**

Key words: gonadotoxic cancer treatment, male infertility, fertility preservation, germ cell transplantation, spermatogenesis

■ Biologische Grundlagen der Fertilitätsstörung durch die onkologische Therapie

Durch verbesserte Krebstherapien in den vergangenen 20 Jahren konnte die Überlebensrate von onkologischen Patienten signifikant gesteigert werden [1]. Dieser positive Trend bedeutet jedoch auch, dass sich sowohl behandelnde Ärzte als auch Patienten bislang unbekanntem Langzeitnebenwirkungen gegenübersehen, die die Lebensqualität der Patienten nach deren Genesung nachhaltig beeinträchtigen können. Das schwer abzuschätzende Risiko von Langzeitfolgen der Therapie sowie eventuelle prophylaktische Maßnahmen vor Beginn der Krebstherapie gewinnen somit zunehmend an Bedeutung. Eine ernstzunehmende, langfristige Schädigung durch

Chemo- oder Radiotherapie betrifft die Fertilität des Patienten.

Die Aufrechterhaltung der Homöostase im Hodentubulus ist entscheidend für den korrekten Ablauf der Spermatogenese. Ausgehend von den Keimstammzellen, den Spermatogonien, wird der Spermatogeneseprozess durch eine streng regulierte Abfolge von Zellteilungs- und Differenzierungsvorgängen gewährleistet (Abb. 1). Man unterscheidet im menschlichen Hoden drei Typen von Spermatogonien. Die Ad- (A dark-) Spermatogonien stellen die eigentlichen testikulären Stammzellen dar, die regenerative Reserve des Hodenepithels. Diese Zellen sind während der Pubertät teilungsaktiv und sorgen für eine ausreichende Besiedlung des wachsenden Hodens. Im adulten Hoden sind Ad-Spermatogonien in nur sehr geringem

Umfang teilungsaktiv und treten nur nach zytotoxischer oder radiologischer Behandlung wieder verstärkt in den Zellzyklus ein. Demgegenüber bilden die Ap- (A pale-) Spermatogonien die funktionelle Reserve des adulten Hodens. Sie fungieren als Vorläuferzellen, die durch eine mitotische Teilung die differenzierenden B-Spermatogonien generieren. Nach einer weiteren Mitose bilden sich aus den B-Spermatogonien schließlich die primären Spermatozyten, die in die Meiose eintreten. Somit entstehen im menschlichen Hoden aus einer Ap-Spermatogonie 4 diploide Spermatozyten bzw. 16 haploide Spermatozyten [2] (Abb. 1). Dieses Stammzellensystem gewährleistet ein Gleichgewicht aus effektiver Spermienproduktion und gleichzeitiger DNA-Integrität der Spermien. Obwohl die Spermatogenese über die Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-

Eingegangen: 25.02.2009; akzeptiert nach Revision: 13.05.2009

Aus dem ¹Department of Cell Biology and Physiology, Center for Research in Reproductive Physiology, University of Pittsburgh School of Medicine, Pittsburgh, Pennsylvania, USA, und dem ²Centrum für Reproduktionsmedizin und Andrologie, Universität Münster

Korrespondenzadresse: Prof. Dr. rer. nat. Stefan Schlatt, Centrum für Reproduktionsmedizin und Andrologie, Universität Münster, D-48149 Münster, Domagkstraße 11; E-Mail: Stefan.Schlatt@ukmuenster.de

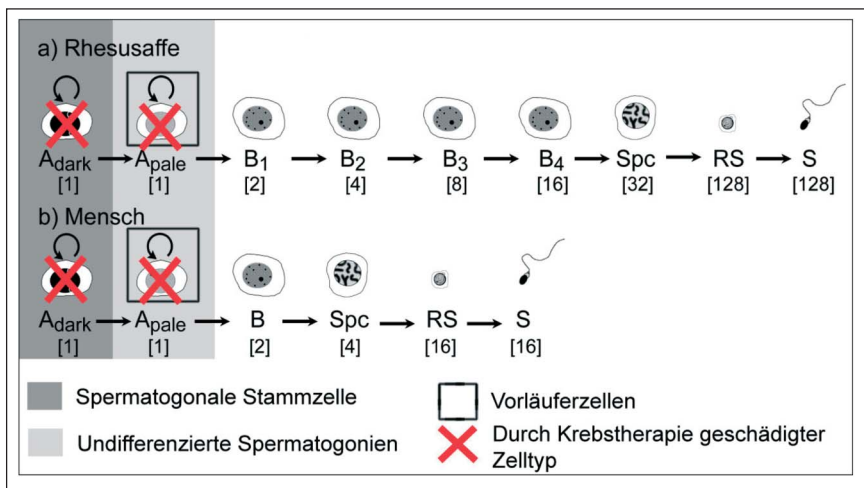


Abbildung 1: Schematische Übersicht über die Spermatogenese bei Rhesusaffe und Mensch. Zahlen in eckigen Klammern geben die Anzahl der Tochterzellen aus jeweils einer differenzierenden Vorläuferzelle an. Spc = Spermatozyte; RS = Runde Spermatoide; S = Reifes Spermium

Achse reguliert wird, ist anzumerken, dass die hormonelle Regulation primär auf Stufe der differenzierenden Keimzellen stattfindet. Die spermatogonialen Stammzellen dagegen agieren unabhängig von Testosteron oder Gonadotropinen.

Zytostatika und Bestrahlung können zu Oligo- und Azoospermie führen. Die Störung der Spermatogenese durch eine Krebstherapie geht auf Schädigungen der teilungsaktiven Spermatogonien zurück, während die Keimstammzellen weniger sensitiv auf Chemo- oder Bestrahlungstherapie reagieren. Entscheidend für eine spontane Refertilisierung nach erfolgter Krebstherapie ist die Neubesiedlung der Hodentubuli, ausgehend von den Keimstammzellen. Der Grad der Schädigung, die Chance auf spontane Refertilisierung und das Risiko zur permanenten Sterilität ist direkt von der Art, Dosis und Fraktionierung der Therapie sowie dem Patientenalter anhängig [3]. Das Risiko dieser Schädigung sollte vor Therapiebeginn mit dem Patienten diskutiert werden [4].

■ Klinisch relevante Techniken zur Fertilitätskonservierung bei Männern

Nicht-gonadotoxische Therapie

Der Einsatz von alkylierenden Zytostatika zeigt einen deutlichen kumulativen Dosisseffekt, eine Verringerung der kumulativen Dosis auf < 400 mg/kg Körpergewicht führt zu einer Verringerung der Hodenfunktionsschädigung [5].

Die Behandlung von Hodenkrebs und Hodgkins-Syndrom mit Cisplatin-basierten Protokollen oder unter Verwendung von nicht-alkylierenden Substanzen verspricht nicht nur eine hohe Heilungsrate, sondern auch eine erhöhte Wahrscheinlichkeit der spontanen Refertilisierung [6]. Zum Schutz vor der zytostatischen Wirkung der Chemotherapie wurde außerdem die hormonelle Suppression der Spermatogenese vorgeschlagen. Allerdings lieferten die bisher verfolgten Strategien zur gonadalen Protektion weder bei Primaten noch in klinischen Tests zufriedenstellende Ergebnisse [7]. Obwohl die hormonelle Regulation der Spermatogenese prinzipiell möglich ist, z. B. durch den präventiven Einsatz von GnRH-Antagonisten, werden bei dieser Methode lediglich die proliferierenden Keimzellen inaktiviert, nicht aber die Spermatogonien, die daher nach wie vor der zytostatischen Wirkung der Therapeutika ausgesetzt sind. Darüber hinaus kann die vollständige Inhibition der Spermatogenese einen Zeitraum von mehreren Wochen in Anspruch nehmen, was eine mitunter nicht zu verantwortende Verzögerung der onkologischen Therapie zur Folge haben könnte.

Die Schädigung des Hodens durch Radiotherapie ist ebenfalls dosisabhängig, die Verabreichung einer einmaligen Strahlendosis hat weniger schädigende Effekte als eine fraktionierte Exposition [1]. Bei einer Strahlungsintensität von 1 Gy wurde eine Repopulation nach 9–18 Monaten beobachtet, während eine Dosis von 10 Gy erst nach mehr als 4 Jahren zur Wiederherstellung der Sper-

matogenese führte [8, 9]. TBI („total body irradiation“) zur Vorbereitung einer Knochenmarkstransplantation führte dagegen bei 80 % aller Patienten zu dauerhafter Infertilität [10]. Wenn möglich, bietet die Abschirmung des Hodens vor der Strahlung oder die Entfernung aus dem Strahlenfeld eine effektive und in der Praxis weit verbreitete Maßnahme, um unerwünschten Schädigungen vorzubeugen [4].

Im Unterschied zur Spermatogenese ist die Steroidogenese erst bei hoher Chemo- oder Strahlendosis gestört. Androgenmangel bildet ein ernsthaftes Problem bei onkologischen Patienten, die aufgrund einer Remission oder einer Ganzkörperbestrahlung im Rahmen einer Knochenmarkstransplantation hohen Dosen zytotoxischer Therapeutika oder Strahlung ausgesetzt wurden.

Kryokonservierung von Spermien

Die Kryokonservierung des Ejakulats ist das Mittel der Wahl, um eine Fertilitätsreserve anzulegen. Sie sollte daher von erwachsenen und pubertierenden Patienten mit einem Hodenvolumen ab 10–12 ml vor Beginn der onkologischen Therapie unbedingt in Betracht gezogen werden [11]. Bei späterem Kinderwunsch kann diese Reserve für ART-Maßnahmen („assisted reproductive technologies“) herangezogen werden. Jedoch bietet diese Methode nicht die Möglichkeit, den erlittenen Hodendefekt zu heilen. Obwohl Azoospermie erst mit einiger Verzögerung nach Therapiebeginn auftritt, und eine Kryokonservierung daher auch nach dem ersten oder zweiten chemotherapeutischen Zyklus theoretisch möglich ist, muss von einer derartigen Praxis abgeraten werden. Schädigende Effekte auf die DNA-Integrität in reifenden Keimzellen, die den Spermatogeneseprozess zu Beginn der Therapie durchlaufen, stellen ein hohes Risiko für die spätere Verwendung der Spermien für ICSI („intracytoplasmic sperm injection“) und IVF („in vitro fertilisation“) dar. Systemisch verabreichte Chemotherapie oder lokal verabreichte Bestrahlung können zu Chromosomenanomalien, Aneuploidie und erhöhten Mutationsraten in den Spermien führen, und somit direkt den Erfolg der ART-Maßnahmen beeinflussen. Intakte Gameten sind unbedingt erforderlich für den Einsatz von ART-Maßnahmen.

Kryokonservierung von Spermien ist nicht geeignet für präpubertäre Patienten, die kein Ejakulat für die Kryokonservierung zur Verfügung stellen können. Für heranwachsende Jungen am Beginn der Pubertät bietet sich die Möglichkeit, durch Extraktion aus Hodenbiopsien oder durch Elektroejakulation Keimzellen für die Kryokonservierung zu gewinnen [12]. Beide Methoden stellen jedoch einen invasiven Eingriff und eine nicht zu unterschätzende psychologische Herausforderung dar. Im Angesicht einer lebensbedrohenden Erkrankung und der damit verbundenen Dringlichkeit für einen sofortigen Therapiebeginn erscheint daher die Zweckmäßigkeit fertilitätskonservierender Maßnahmen besonders bei jungen Patienten problematisch.

■ Experimentelle Ansätze zur Fertilitätskonservierung bei Männern

Transplantation von Hodengewebe

Die Gewinnung von Hodengewebe durch Biopsie bietet die Möglichkeit, Keimstammzellen vor Therapiebeginn zu gewinnen und extrakorporal zu konservieren. Nach erfolgreicher Therapie und Erholung des Patienten könnte das Gewebe für eine Autotransplantation genutzt werden, um die Differenzierung von Keimzellen in dem transplantierten Gewebe zu initiieren. Zwei Strategien sind denkbar. Zum einen könnten intakte Gewebe orthotopisch oder ektopisch transplantiert werden, sodass die enthaltenen Spermatozoen nach der Revascularisierung des Grafts aktiviert werden und differenzierende Keimzellen generieren [13]. Die autologe Transplantation konnte bereits an Primaten gezeigt werden [14, 15]. Die auf diese Weise gewonnenen Keimzellen könnten durch Extraktion gewonnen und für assistierte Fertilisation eingesetzt werden. Zum anderen ist denkbar, Spermatozoen aus der Biopsie zu isolieren und direkt in ihre natürliche Stammzellnische im Hoden zu transplantieren [16]. Diese Methode bietet die derzeit einzige Option, Infertilität zu heilen. Hierbei ist zu evaluieren, inwiefern die somatischen Zellen im Hoden und besonders die Stammzellnische durch die therapeutischen Maßnahmen beeinträchtigt wurden. Beide Techniken sind bislang nur

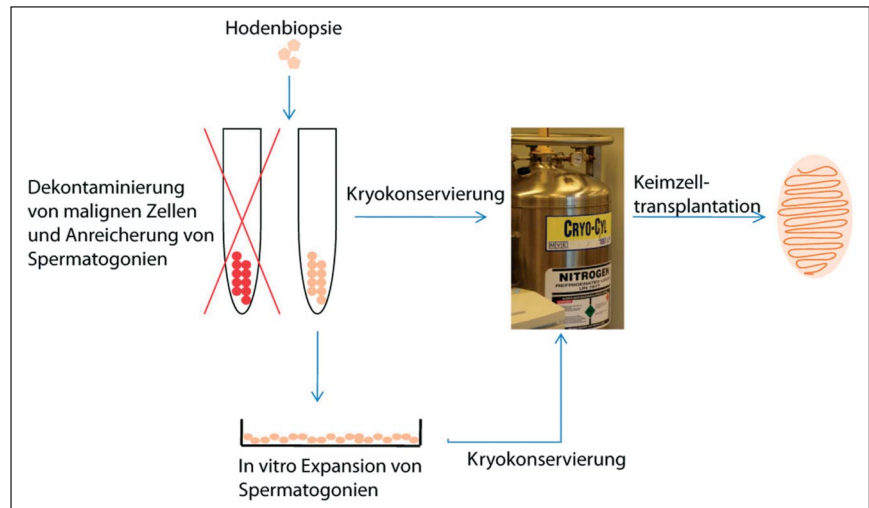


Abbildung 2: Keimzelltransplantation zur Fertilitätskonservierung bei Krebspatienten

experimentell, zeigen aber vielversprechende Ergebnisse in Versuchen an Primaten sowie in klinischen Tests [13].

In-vitro-Generierung von Gameten und Hodengewebe

Die In-vitro-Generierung von Spermien aus Vorläuferzellen, wie sie für Oozyten bereits gezeigt wurde [17], ist für die männlichen Gameten nach dem heutigen Stand der Technik nur begrenzt möglich [18]. Neuartige dreidimensionale Kultursysteme zur In-vitro-Bildung von Stammzellnischen und zur Generierung von Spermatozoen werden zurzeit experimentell erprobt und bieten eine faszinierende Möglichkeit zur Behandlung von Unfruchtbarkeit bei Männern [19, 20].

Eine weitere Methode zur extrakorporalen Gewinnung von Spermien ist das Grafting. Xenotransplantationen von Hodengewebe wurden erstmals erfolgreich an Mäusen durchgeführt [21]. Bis heute konnte diese Methode für verschiedene Säugetierarten, darunter Hamster, Katze, Schwein, Schaf, Ziege, Rind, Pferd und Primaten etabliert werden und führte bei Verwendung immatures Hodengewebes zur Generierung von Spermien in den Grafts [21–28]. Die Extraktion von Keimzellen aus Grafts mit anschließender In-vitro-Fertilisierung und der erfolgreichen Produktion von Nachkommen konnten dagegen bislang nur bei Nagern gezeigt werden [29]. Versuche mit adultem, menschlichem Gewebe zeigten bislang nur eine begrenzte Überlebensrate der Grafts mit einer hohen Nekrose rate des transplantierten Gewebes [30–32]. Allgemein deuten die Ergebnisse aus diesen Studien darauf hin,

dass das Überleben des Grafts direkt vom Alter des Donors abhängt [13].

■ Keimzelltransplantation in verschiedenen Tiermodellen und beim Menschen

Die Keimzelltransplantation eröffnet neue Perspektiven für die Refertilisierung von Patienten, die infolge einer gonadotoxischen Chemo- und Strahlentherapie unfruchtbar geworden sind (Abb. 2). Die Transplantation von testikulären Stammzellen mit anschließender Neubesiedlung der Hodentubuli wurde 1994 erstmals erfolgreich an Mäusen durchgeführt [16]. Die Methode wurde seitdem ständig weiterentwickelt und stellt heute eine Standardmethode zur Refertilisierung von genetisch oder experimentell infertilen Nagern dar. Darüber hinaus wurde die Transplantation seitdem bei verschiedenen Labor- und Nutztieren etabliert (Tab. 1). Die Kombination von Kryokonservierung der Stammzellen und anschließender Transplantation ist ebenfalls beschrieben worden und bietet Hoffnung auf eine eventuelle klinische Anwendung [63]. Im Gegensatz zu den bisher vorgestellten Techniken ist die Stammzelltransplantation die einzige Methode, die die natürliche Fertilität wiederherstellen und somit eine vollständige Genesung herbeiführen könnte. Erste klinische Studien wurden 1999 in Großbritannien durchgeführt [60]. Nach einer Krebstherapie unterzogen sich 7 von insgesamt 12 Patienten einer Keimzelltransplantation. Die Nachuntersuchungen sind noch nicht abgeschlossen, jedoch konnte bis heute

Tabelle 1: Keimzelltransplantationen in experimentellen und präklinischen Studien

Zell-Donor	Zell-Rezipient	Ergebnis	Referenz
Keimzelltransplantation bei Labortieren			
Maus	Maus	Spermatogenese und Nachkommen	[16, 33]
Ratte	Maus	Spermatogenese und Nachkommen	[34, 35]
Hamster	Maus	Spermatiden	[36]
Kaninchen	Maus	Kolonisierung der Tubuli mit Spermatogonien	[37]
Hund	Maus	Kolonisierung der Tubuli mit Spermatogonien	[37]
Hauskatze	Maus	Kolonisierung der Tubuli mit Spermatogonien	[38]
Schwein	Maus	Kolonisierung der Tubuli mit Spermatogonien	[39]
Rind	Maus	Kolonisierung der Tubuli mit Spermatogonien	[39, 40]
Pferd	Maus	Kolonisierung der Tubuli mit Spermatogonien	[39]
Baboon	Maus	Kolonisierung der Tubuli mit Spermatogonien	[41]
Rhesus-Affe	Maus	Kolonisierung der Tubuli mit Spermatogonien	[42]
Mensch	Maus	Kolonisierung der Tubuli mit Spermatogonien	[43]
Ratte	Ratte	Spermatogenese und Nachkommen	[44–46]
Maus	Ratte	Spermatogenese	[45]
Keimzelltransplantation bei Nutztieren			
Schwein	Schwein	Kolonisierung der Tubuli mit Spermatogonien	[47]
Ziege	Ziege	Spermatogenese und Nachkommen	[48, 49]
Rind	Rind	Spermatogenese	[50, 51]
Forelle	Forelle	Spermatogenese und Nachkommen	[52, 53]
Forelle	Lachs	Spermatogenese und Nachkommen	[54]
Hahn	Hahn	Spermatogenese und Nachkommen	[55, 56]
Schwein	Schwein	Spermatogenese	[57]
Keimzelltransplantation bei Primaten			
Javaner-Affe	Javaner-Affe	Typ-B-Spermatogonien	[58, 59]
Mensch	Mensch	laufende Studien	[60–62]

keine Repopulation des Hodens und Wiederherstellung der Fertilität beobachtet werden [61]. Präklinische Studien an Primaten und Männern deuten allerdings auf eine prinzipielle Durchführbarkeit der Technik als Behandlungsmethode hin [58, 59]. Wichtige Parameter für eine erfolgreiche klinische Anwendung sind die sichere Gewinnung einer ausreichenden Anzahl an Spermatogonien aus Hodenbiopsien vor Beginn der Krebstherapie, die schnelle und sterile Handhabung des Materials zur Vermeidung von Ischämie und Kontaminationen, geeignete Protokolle zur Kryokonservierung der Proben, zuverlässige Aussortierung von kontaminierenden Tumorzellen, Anreicherung der Spermatogonien und eine effiziente Transplantationsmethode, bevorzugt mithilfe von Ultraschall zur Lokalisation der Rete testis als Ort der Injektion.

Risiken und Probleme der invasiven Gewinnung von Keimzellen
 Einer aktuellen Studie zufolge birgt die Biopsie von Hodengewebe während der Orchidopexie einer Hodendystopie kein

erhöhtes Risiko einer langfristigen Schädigung der Organfunktion [64]. Demnach stellt die Gewinnung von Hodengewebe zur Kryokonservierung vor Beginn der Behandlung solider Tumore eine Chance der Fertilitätsreserve dar. Im Falle von leukämieerkrankten Patienten ist dagegen zu bedenken, dass ein erhöhtes Risiko des Hodentraumas besteht, wie es auch für die Lendenpunktion beschrieben wurde. In dieser Studie wurde eine erhöhte Rückfallquote der Leukämie im ZNS beobachtet [65]. Die mögliche Ausbreitung von malignen Zellen nach einem Hodentrauma stellt somit ein hohes Risiko dar.

Ein weiteres Problem für die klinische Anwendung von Stammzelltransplantationen zur Behandlung von Unfruchtbarkeit ergibt sich aus der geringen Dichte der Spermatogonien im Hoden. Detaillierte Studien zur genauen Anzahl bei Menschen und Primaten stehen nicht zur Verfügung, allerdings kann davon ausgegangen werden, dass der Anteil der Spermatogonien nur bei < 1 % im Vergleich zur Gesamtzellzahl im adulten

Hoden liegt. Die Gewinnung von Stammzellen aus Hodenbiopsien zur späteren Transplantation ist daher nur sinnvoll, wenn die gewonnenen Spermatogonien in vitro vermehrt werden können. Ein geeignetes Kultursystem konnte bislang erst für Nager etabliert werden [66, 67].

Risiken assoziiert mit der Transplantation von kryokonserviertem Material

Die größte Gefahr bei der Transplantation von Stammzellen nach erfolgter Chemotherapie ist die Wiedereinführung von malignen Zellen durch kontaminiertes Material, wie es bei Ratten beobachtet wurde [68]. Die Aussortierung von malignen Zellen mittels FACS („fluorescence activated cell sorting“) wurde daher als eine Möglichkeit diskutiert, um dieses Risiko zu mindern. Prinzipiell steht diese Methode für Einzellsuspensionen von testikulären Zellen zur Verfügung, nicht jedoch für intakte Gewebeproben. Das Verfahren wurde bereits bei leukämischen Mäusen angewendet [69], die zurzeit verwendeten Techniken sind jedoch nicht ausreichend, um kontaminierende maligne Zellen vollständig zu entfernen [70, 71]. Für die aufwendigen Sortierungsprotokolle wird außerdem eine hohe Zellzahl benötigt, die in der Praxis nicht zur Verfügung steht. Auch der Mangel an zuverlässigen Oberflächenmarkern für Spermatogonien sowie die Beobachtung, dass Spermatogonien und leukämische Zellen viele gemeinsame Oberflächenmarker teilen, stellen weitere Hindernisse dar die es zu bewältigen gilt, bevor eine klinische Anwendung in Frage kommt. Das bereits erwähnte Xenografting bietet in diesem Zusammenhang eine Möglichkeit zur Detektion maligner Zellen in einer gegebenen Gewebeprobe [72].

Fazit

Die Kryokonservierung von Spermien zum späteren Einsatz in ART ist die bislang einzige klinisch realisierbare Option zur Fertilitätskonservierung bei Krebspatienten. Diese Methode sollte daher vor Beginn einer Chemo- und Radiotherapie unbedingt mit erwachsenen Patienten sowie Jungen in der Pubertät diskutiert werden. Die Entwicklung spezifischer Behandlungsstrategien kann darüber hinaus den gonadotoxischen Effekt der Therapie verringern. Hierbei

ist zu beachten, dass die Effektivität der Behandlung nach wie vor oberste Priorität besitzt, um einen erfolgreichen Therapieverlauf zu garantieren. Ist die Kryokonservierung von Spermien aus dem Ejakulat nicht möglich, z. B. bei pubertären Patienten, so besteht die Möglichkeit der testikulären Spermienextraktion. Im Hodengewebe vorhandene Spermien können dann eingefroren werden. Sind keine Spermien vorhanden, kann eine Kryokonservierung von Hodengewebe zur Konservierung testikulärer Stammzellen aus Biopsien verwendet werden. Ob und wie eine Gewinnung von Spermien aus diesen Vorläuferzellen gelingen kann, ist allerdings noch offen und muss experimentell erforscht werden. Diese invasiven Maßnahmen stellen eine hohe psychische wie physische Belastung für den jungen Patienten dar und sind daher genauestens abzuwägen.

Neue Methoden zur Fertilitätskonservierung bzw. Refertilisierung befinden sich zurzeit in der Entwicklung, darunter z. B. Stammzelltransplantation, Autotransplantation von Hodengewebe oder

Xenografting zur extrakorporalen Gewinnung von Keimzellen. Zukünftige Studien werden zeigen, welche dieser Methoden eine klinische Anwendung finden werden.

■ Relevanz für die Praxis

- Fertilitätskonservierende Maßnahmen sollten mit dem Patienten vor Beginn einer möglicherweise gonadotoxischen Krebstherapie diskutiert werden.
- Cisplatin und nicht-alkylierende Zytostatika, sowie die Abschirmung des Hodens vor der Strahlung, bieten Möglichkeiten zur Verringerung des Risikos der Hodenfunktionsstörung.
- Die Kryokonservierung von Spermien ist derzeit die einzige klinisch realisierbare Option zur Fertilitätskonservierung in Krebspatienten.
- Neue Methoden zur Fertilitätskonservierung wie Keimzelltransplantation, Autotransplantation von Hodengewebe und In-vitro-Verfahren zur extrakorporalen Gewinnung von Keimzellen befinden sich zurzeit im experimentellen Stadium.
- Für präpubertäre Patienten besteht daher die Möglichkeit der Kryokonservierung von Hodengewebe aus Biopsien zur späteren Verwendung, wobei diese invasive Maßnahme eine hohe psychische und physische Belastung für den jungen Patienten darstellt und daher genauestens abzuwägen ist.

Literatur:

- Simon B, Lee SJ, Partridge AH, Runowicz CD. Preserving fertility after cancer. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 211–28.
- Ehmcke J, Wistuba J, Schlatt S. Spermatogonial stem cells: questions, models and perspectives. *Hum Reprod Update* 2006; 12: 275–82.
- Puschek E, Philip PA, Jeyendran RS. Male fertility preservation and cancer treatment. *Cancer Treat Rev* 2004; 30: 173–80.
- Wallace WH, Anderson RA, Irvine DS. Fertility preservation for young patients with cancer: who is at risk and what can be offered? *Lancet Oncol* 2005; 6: 209–18.
- Rivkees SA, Crawford JD. The relationship of gonadal activity and chemotherapy-induced gonadal damage. *JAMA* 1988; 259: 2123–5.
- Brødøy M, Fosså SD, Klepp O, Bremnes RM, Wist EA, Wentzel-Larsen T, Dahl O. Paternity following treatment for testicular cancer. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97: 1580–8.
- Shetty G, Meistrich ML. Hormonal approaches to preservation and restoration of male fertility after cancer treatment. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2005; 34: 36–9.
- Hahn EW, Feingold SM, Simpson L, Batata M. Recovery from aspermia induced by low-dose radiation in seminoma patients. *Cancer* 1982; 50: 337–40.
- Anserini P, Chiodi S, Spinelli S, Costa M, Conte N, Copello F, Bacigalupo A. Semen analysis following allogeneic bone marrow transplantation. Additional data for evidence-based counselling. *Bone Marrow Transplant* 2002; 30: 447–51.
- Socié G, Salooja N, Cohen A, Rovelli A, Carreras E, Locasciulli A, Korhof E, Weis J, Levy V, Tichelli A; Late Effects Working Party of the European Study Group for Blood and Marrow Transplantation. Nonmalignant late effects after allogeneic stem cell transplantation. *Blood* 2003; 101: 3373–85.
- Kamisckhe A, Jürgens H, Hertle L, Berdel WE, Nieschlag E. Cryopreservation of sperm from adolescents and adults with malignancies. *J Androl* 2004; 25: 586–92.
- Meseguer M, Garrido N, Remohí J, Pellicer A, Simón C, Martínez-Jabaloyas JM, Gil-Salom M. Testicular sperm extraction (TESE) and ICSI in patients with permanent azoospermia after chemotherapy. *Hum Reprod* 2003; 18: 1281–5.
- Orwig KE, Schlatt S. Cryopreservation and transplantation of spermatogonia and testicular tissue for preservation of male fertility. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2005; 34: 51–6.
- Wistuba J, Luetjens CM, Wesselmann R, Nieschlag E, Simoni M, Schlatt S. Meiosis in autologous ectopic transplants of immature testicular tissue grafted to Callithrix jacchus. *Biol Reprod* 2006; 74: 706–13.
- Luetjens CM, Stukenborg JB, Nieschlag E, Simoni M, Wistuba J. Complete spermatogenesis in orthotopic but not in ectopic transplants of autologously grafted marmoset testicular tissue. *Endocrinology* 2008; 149: 1736–47.
- Brinster RL, Zimmermann JW. Spermatogenesis following male germ-cell transplantation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91: 11298–302.
- Brinster RL, Zimmermann JW. Derivation of oocytes from mouse embryonic stem cells. *Science* 2003; 300: 1251–6.
- Nayernia K, Nolte J, Michelmann HW, Lee JH, Rathack K, Drusenheimer N, Dev A, Wulf G, Ehrmann IE, Elliott DJ, Okpanyi V, Zechner U, Haaf T, Meinhardt A, Engel W. In vitro-differentiated embryonic stem cells give rise to male gametes that can generate offspring mice. *Dev Cell* 2006; 11: 125–32.
- Gassei K, Schlatt S, Ehmcke J. De novo morphogenesis of seminiferous tubules from dissociated immature rat testicular cells in xenografts. *J Androl* 2006; 27: 611–8.
- Stukenborg JB, Wistuba J, Luetjens CM, Elhija MA, Huleihel M, Lunenfeld E, Gromoll J, Nieschlag E, Schlatt S. Coculture of spermatogonia with somatic cells in a novel three-dimensional soft-agar-culture-system. *J Androl* 2008; 29: 312–29.
- Honaramooz A, Snedaker A, Boiani M, Schöler H, Dobrinski I, Schlatt S. Sperm from neonatal mammalian testes grafted in mice. *Nature* 2002; 418: 778–81.
- Arregui L, Rathi R, Megee SO, Honaramooz A, Gomendio M, Roldan ER, Dobrinski I. Xenografting of sheep testis tissue and isolated cells as a model for preservation of genetic material from endangered ungulates. *Reproduction* 2008; 136: 85–93.
- Honaramooz A, Li MW, Penedo MC, Meyers S, Dobrinski I. Accelerated maturation of primate testis by xenografting into mice. *Biol Reprod* 2004; 70: 1500–3.
- Snedaker AK, Honaramooz A, Dobrinski I. A game of cat and mouse: xenografting of testis tissue from domestic kittens results in complete cat spermatogenesis in a mouse host. *J Androl* 2004; 25: 926–30.
- Turner RM, Rathi R, Zeng W, Dobrinski I. Xenografting of degenerate stallion testis onto a mouse host does not rescue the testicular degeneration phenotype. *Anim Reprod Sci* 2005; 89: 253–5.
- Zeng W, Avelar GF, Rathi R, Franca LR, Dobrinski I. The length of the spermatogenic cycle is conserved in porcine and ovine testis xenografts. *J Androl* 2006; 27: 527–33.
- Kim Y, Selvaraj V, Pukazhenthil B, Travis AJ. Effect of donor age on success of spermatogenesis in feline testis xenografts. *Reprod Fertil Dev* 2007; 19: 869–76.
- Rathi R, Zeng W, Megee S, Conley A, Meyers S, Dobrinski I. Maturation of testicular tissue from infant monkeys after xenografting into mice. *Endocrinology* 2008; 149: 5288–96.
- Schlatt S, Honaramooz A, Boiani M, Schöler HR, Dobrinski I. Progeny from sperm obtained after ectopic grafting of neonatal mouse testes. *Biol Reprod* 2003; 68: 2331–5.
- Schlatt S, Honaramooz A, Ehmcke J, Goebell PJ, Rübber H, Dhir R, Dobrinski I, Patrizio P. Limited survival of adult human testicular tissue as ectopic xenograft. *Hum Reprod* 2006; 21: 384–9.
- Geens M, De Block G, Goossens E, Frederickx V, Van Steirteghem A, Tournaye H. Spermatogonial survival after grafting human testicular tissue to immunodeficient mice. *Hum Reprod* 2006; 21: 390–6.
- Goossens E, Geens M, De Block G, Tournaye H. Spermatogonial survival in long-term human prepubertal xenografts. *Fertil Steril* 2008; 90: 2019–22.
- Brinster RL, Avarbock MR. Germline transmission of donor haplotype following spermatogonial transplantation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91: 11303–7.
- Clouthier DE, Avarbock MR, Maika SD, Hammer RE, Brinster RL. Rat spermatogenesis in mouse testis. *Nature* 1996; 381: 418–21.
- Shinohara T, Kato M, Takehashi M, Lee J, Chuma S, Nakatsuji N, Kanatsu-Shinohara M, Hirabayashi M. Rats produced by interspecies spermatogonial transplantation in mice and in vitro microinsemination. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 13624–8.
- Ogawa T, Dobrinski I, Avarbock MR, Brinster RL. Xenogenic spermatogenesis following transplantation of hamster germ cells to mouse testes. *Biol Reprod* 1999; 60: 515–21.
- Dobrinski I, Avarbock MR, Brinster RL. Transplantation of germ cells from rabbits and dogs into mouse testes. *Biol Reprod* 1999; 61: 1331–9.
- Kim Y, Selvaraj V, Dobrinski I, Lee H, McEntee MC, Travis AJ. Recipient preparation and mixed germ cell isolation for spermatogonial stem cell transplantation in domestic cats. *J Androl* 2006; 27: 248–56.
- Dobrinski I, Avarbock MR, Brinster RL. Germ cell transplantation from large domestic animals into mouse testes. *Mol Reprod Dev* 2000; 57: 270–9.
- Izadyar F, Den Ouden K, Creemers LB, Posthuma G, Parvinen M, De Rooij DG. Proliferation and differentiation of bovine type A spermatogonia during long-term culture. *Biol Reprod* 2003; 68: 272–81.
- Nagano M, McCarrey JR, Brinster RL. Primate spermatogonial stem cells colonize mouse testes. *Biol Reprod* 2001; 64: 1409–16.
- Hermann BP, Sukhwani M, Lin CC, Sheng Y, Tomko J, Rodriguez M, Shuttleworth JJ, McFarland D, Hobbs RM, Pandolfi PP, Schatten GP, Orwig KE. Characterization, cryopreservation and ablation of spermatogonial stem cells in adult Rhesus macaques. *Stem Cells* 2007; 25: 2330–8.

43. Nagano M, Patrizio P, Brinster RL. Long-term survival of human spermatogonial stem cells in mouse testes. *Fertil Steril* 2002; 78: 1225–33.
44. Zhang Z, Renfree MB, Short RV. Successful intra- and interspecific male germ cell transplantation in the rat. *Biol Reprod* 2003; 68: 961–7.
45. Ogawa T, Dobrinski I, Brinster RL. Recipient preparation is critical for spermatogonial transplantation in the rat. *Tissue Cell* 1999; 31: 461–72.
46. Jiang FX, Short RV. Male germ cell transplantation in rats: apparent synchronization of spermatogenesis between host and donor seminiferous epithelia. *Int J Androl* 1995; 18: 326–30.
47. Honaramooz A, Megee SO, Dobrinski I. Germ cell transplantation in pigs. *Biol Reprod* 2002; 66: 21–8.
48. Honaramooz A, Behboodi E, Blash S, Megee SO, Dobrinski I. Germ cell transplantation in goats. *Mol Reprod Dev* 2003; 64: 422–8.
49. Honaramooz A, Behboodi E, Megee SO, Overton SA, Galantino-Homer H, Echelard Y, Dobrinski I. Fertility and germline transmission of donor haplotype following germ cell transplantation in immunocompetent goats. *Biol Reprod* 2003; 69: 1260–4.
50. Izadyar F, Den Ouden K, Stout TA, Stout J, Coret J, Lankveld DP, Spoormakers TJ, Colenbrander B, Oldenbroek JK, Van der Ploeg KD, Woelders H, Kal HB, De Rooij DG. Autologous and homologous transplantation of bovine spermatogonial stem cells. *Reproduction* 2003; 126: 765–74.
51. Herrid M, Vignarajan S, Davey R, Dobrinski I, Hill JR. Successful transplantation of bovine testicular cells to heterologous recipients. *Reproduction* 2006; 132: 617–24.
52. Okutsu T, Suzuki K, Takeuchi Y, Takeuchi T, Yoshizaki G. Testicular germ cells can colonize sexually undifferentiated embryonic gonad and produce functional eggs in fish. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 2725–9.
53. Takeuchi Y, Yoshizaki G, Takeuchi T. Generation of live fry from intraperitoneally transplanted primordial germ cells in rainbow trout. *Biol Reprod* 2003; 69: 1142–9.
54. Okutsu T, Shikina S, Kanno M, Takeuchi Y, Yoshizaki G. Production of trout offspring from triploid salmon parents. *Science* 2007; 317: 1517.
55. Lee YM, Jung JG, Kim JN, Park TS, Kim TM, Shin SS, Kang DK, Lim JM, Han JY. A testis-mediated germline chimera production based on transfer of chicken testicular cells directly into heterologous testes. *Biol Reprod* 2006; 75: 380–6.
56. Trefil P, Micáková A, Mucksová J, Hejnar J, Poplstein M, Bakst MR, Kalina J, Brillard JP. Restoration of spermatogenesis and male fertility by transplantation of dispersed testicular cells in the chicken. *Biol Reprod* 2006; 75: 575–81.
57. Mikkola M, Sironen A, Köpp C, Taponen J, Sukura A, Vilkki J, Katila T, Andersson M. Transplantation of normal boar testicular cells resulted in complete focal spermatogenesis in a boar affected by the immotile short-tail sperm defect. *Reprod Domest Anim* 2006; 41: 124–8.
58. Schlatt S, Rosiepen G, Weinbauer GF, Rolf C, Brook PF, Nieschlag E. Germ cell transfer into rat, bovine, monkey and human testes. *Hum Reprod* 1999; 14: 144–50.
59. Schlatt S, Foppiani L, Rolf C, Weinbauer GF, Nieschlag E. Germ cell transplantation into X-irradiated monkey testes. *Hum Reprod* 2002; 17: 55–62.
60. Radford J, Shalet S, Lieberman B. Fertility after treatment for cancer. Questions remain over ways of preserving ovarian and testicular tissue. *BMJ* 1999; 319: 935–6.
61. Radford J. Restoration of fertility after treatment for cancer. *Horm Res* 2003; 59 (Suppl 1): 21–3.
62. Brook PF, Radford JA, Shalet SM, Joyce AD, Gosden RG. Isolation of germ cells from human testicular tissue for low temperature storage and autotransplantation. *Fertil Steril* 2001; 75: 269–74.
63. Kanatsu-Shinohara M, Ogonuki N, Inoue K, Ogura A, Toyokuni S, Shinohara T. Restoration of fertility in infertile mice by transplantation of cryopreserved male germline stem cells. *Hum Reprod* 2003; 18: 2660–7.
64. Patel RP, Kolon TF, Huff DS, Carr MC, Zderic SA, Canning DA, Snyder HM 3rd. Testicular microlithiasis and antisperm antibodies following testicular biopsy in boys with cryptorchidism. *J Urol* 2005; 174: 2008–10.
65. Rech A, de Carvalho GP, Meneses CF, Hankins J, Howard S, Brunetto AL. The influence of traumatic lumbar puncture and timing of intrathecal therapy on outcome of pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Hematol Oncol* 2005; 22: 483–8.
66. Kanatsu-Shinohara M, Miki H, Inoue K, Ogonuki N, Toyokuni S, Ogura A, Shinohara T. Long-term culture of mouse male germline stem cells under serum- or feeder-free conditions. *Biol Reprod* 2005; 72: 985–91.
67. Kubota H, Avarbock MR, Brinster RL. Growth factors essential for self-renewal and expansion of mouse spermatogonial stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 16489–94.
68. Jahnukainen K, Hou M, Petersen C, Setchell B, Söder O. Intratesticular transplantation of testicular cells from leukemic rats causes transmission of leukemia. *Cancer Res* 2001; 61: 706–10.
69. Fujita K, Ohta H, Tsujimura A, Takao T, Miyagawa Y, Takada S, Matsumiya K, Wakayama T, Okuyama A. Transplantation of spermatogonial stem cells isolated from leukemic mice restores fertility without inducing leukemia. *J Clin Invest* 2005; 115: 1855–61.
70. Hou M, Andersson M, Zheng C, Sundblad A, Söder O, Jahnukainen K. Decontamination of leukemic cells and enrichment of germ cells from testicular samples from rats with Roser's T-cell leukemia by flow cytometric sorting. *Reproduction* 2007; 134: 767–79.
71. Hou M, Andersson M, Zheng C, Sundblad A, Söder O, Jahnukainen K. Immunomagnetic separation of normal rat testicular cells from Roser's T-cell leukaemia cells is ineffective. *Int J Androl* 2009; 32: 66–73.
72. Hou M, Andersson M, Eksborg S, Söder O, Jahnukainen K. Xenotransplantation of testicular tissue into nude mice can be used for detecting leukemic cell contamination. *Hum Reprod* 2007; 22: 1899–906.

Mitteilungen aus der Redaktion

Die meistgelesenen Artikel



Speculum

Journal für Reproduktionsmedizin und Endokrinologie

