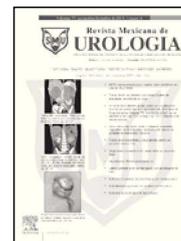




Revista Mexicana de
UROLOGIA

ÓRGANO OFICIAL DE DIFUSIÓN DE LA SOCIEDAD MEXICANA DE UROLOGÍA

www.elsevier.es/uromx



ARTÍCULO DE REVISIÓN

Preservación de la fertilidad en varones con padecimientos oncológicos

A. Góngora-Rodríguez^a, G. Capilla-González^b y L. Y. Parra-Forero^{c,*}

^aEspecialidad en Ginecología y Obstetricia, Biología de la Reproducción, Departamento de Investigación, Centro de Fertilidad Humana, México D.F., México

^bQuímica Farmacéutica Bióloga, Centro de Fertilidad Humana, México D.F., México

^cMedicina Veterinaria, Centro de Fertilidad Humana, México D.F., México

PALABRAS CLAVE

Criopreservación;
Semen; Cáncer;
Fertilidad; México.

Resumen En las últimas 2 décadas, las tasas de sobrevivencia de pacientes oncológicos han aumentado. El aumento de tasa de pacientes oncológicos menores de 20 años ha influenciado en adopción de prácticas de conservación seminal. Los tratamientos para cáncer, principalmente, la quimio y radioterapia pueden afectar la fertilidad. La quimioterapia afecta negativamente a la espermatogénesis, ya sea de forma transitoria o permanente, al igual que la radioterapia donde su daño es dirigido directamente al ADN. En la mayoría de los casos las terapias y el mismo cáncer disminuyen la calidad espermática, la utilización de protocolos que conlleven radiación y/o quimioterapia la disminuyen aún más. Las técnicas de criopreservación y los resultados de la utilización de estas células en reproducción asistida han sido reportadas de manera individual, mostrando diferencias y contradicciones entre ellos.

La criopreservación de semen es la principal opción para la preservación de la fertilidad. Es necesaria la gestión de centros de reproducción asistida para generar programas especiales para estos casos. La recomendación final es que se lleve a cabo de forma inmediata la criopreservación, incluso antes de empezar cualquier tratamiento. La recuperación de procesos fisiológicos normales como la espermatogénesis es lenta, casi toma años y a veces no se da, la prevención debe ser fomentada y la utilización de estos servicios también.

KEYWORDS

Cryopreservation;
Semen; Cancer;
Fertility; Mexico.

Fertility preservation in men with oncologic diseases

Abstract Over the last two decades, the survival rates of oncologic patients have risen. This rate increase in patients under 20 years of age has had an influence on adopting semen preservation practices. Cancer treatments, especially chemotherapy and radiotherapy can affect

* Autor para correspondencia: Tuxpan N° 6, Colonia Roma Sur (4° piso), México D.F., México. Teléfonos: 55649238, 55749186, 55744677. Correo electrónico: investigación@centrodefertilidad.com (L. Y. Parra-Forero).

fertility. Chemotherapy has a negative effect on spermatogenesis that is either transitory or permanent and radiotherapy directly damages DNA. In the majority of cases, both the cancer and its treatments reduce sperm quality and protocols that include radiation and/or chemotherapy do so even more. Cryopreservation techniques and the use of these cells in assisted reproduction have been reported on an individual basis, with different and contradictory results.

Semen cryopreservation is the main option for fertility preservation. Assisted reproduction centers need to be created so that special programs can be developed for these cases. The final recommendation is to carry out cryopreservation immediately, even before beginning any treatment. The recovery of normal physiologic processes such as spermatogenesis is slow - often taking years - and sometimes is not achieved. Therefore prevention, along with these services, should be fomented.

0185-4542 © 2014. Revista Mexicana de Urología. Publicado por Elsevier México. Todos los derechos reservados.

Introducción

En las últimas 2 décadas las tasas de sobrevivencia de pacientes oncológicos han aumentado, debido al avance sustancial de los tratamientos usando medicamentos más seguros, a la detección que ahora es más temprana y a los cuidados que se tienen en cuanto a la menor radiación en zonas que no son necesarias. El aumento de tasa de pacientes oncológicos menores de 20 años ha influenciado en adopción de prácticas de conservación, si bien el incremento de presentación de cáncer en jóvenes es notorio, las posibilidades de sobrevivir también; la preservación de material genético con alta probabilidad de dañarse, ya sea por el tipo de cáncer en sí o por la clase de tratamiento es alta, por esta razón los centros de reproducción asistida en México como en el mundo han redoblado las técnicas de conservación, para que estas muestras de extremo valor sean de mejor calidad y puedan usarse en el futuro, garantizando la preservación de la especie en los sobrevivientes del cáncer.

Muchos hombres y sus familiares tiene el deseo de conseguir una familia, el hecho de concientización de la enfermedad como tal hace que estas personas decidan realizar la preservación de sus células germinales (espermatozoides), la cual ha sido ampliamente reportada por la literatura por las consecuencias sobre la fertilidad en el uso de medicamentos antineoplásicos, la radiación y la quimioterapia. Este tipo de infertilidad en el hombre puede ser temporal o permanente variando individualmente y la predicción de ésta es casi imposible, por esta razón la criopreservación de semen es la principal medida preventiva para realizarse antes de empezar el tratamiento, práctica poco extendida en México por la falta de información de estos servicios por médicos generales y oncólogos; la guía de la *American Society of Clinical Oncology* (ASCO)¹ señala de manera clara cuál es el diagrama de flujo a seguir en caso de tener un paciente con cáncer y darle a conocer las opciones que tiene para que pueda o no elegir la posibilidad de preservar antes de su tratamiento, la cual sería de carácter obligatorio en cualquier país civilizado.

Impacto del cáncer como “padecimiento” en la calidad seminal

La disminución de la calidad seminal de pacientes oncológicos es de origen multifactorial, la respuesta fisiológica ante la aparición “anormal” de un evento celular, llámese cáncer u otra enfermedad, es responder de una manera inmediata sobre ésta, disminuyendo funciones como la reproductiva con el propósito de detener la invasión a otros órganos y que el síndrome paraneoplásico no se dé, o sea menor. De aquí que muchos sistemas metabólicos se ajusten a los nuevos cambios o simplemente dejen de funcionar entre ellos los trastornos endocrinos, respuesta inmune y efectos físicos de tumores que generen la disfunción seminal, autores reportan que la primera función a sacrificar es la reproductiva.

Los resultados donde el cáncer como enfermedad afecta negativamente la calidad del semen son contradictorios, como se presentan en la tabla 1. Allí se muestran diferentes conclusiones para el impacto sobre la función reproductiva, variables como el tipo de cáncer, el lugar donde está, son objeto de estudio de estas investigaciones.

De acuerdo a distintos autores los resultados fueron variables, como el caso de Ragni et al., donde reporta que el 11.6% de los hombres que deseaban criopreservar espermatozoides en su institución sufrieron de azoospermia⁹. En pacientes con linfoma hubo azoospermia en el 3.9%, contrastando con pacientes con tumores testiculares quienes tuvieron un 15.3% de aparición de azoospermia, además de disminuir sus otros parámetros⁸. Lass et al. informó que el 10.5% de los hombres no tratados fueron azoospermicos incluyendo 9.6% de los tumores testiculares, el 13.3% con leucemia o linfoma, y el 3.7% de los hombres con otros tumores malignos¹⁰, reportando parámetros seminales normales según criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS) en sólo el 40% de los hombres con linfoma, 37% con cáncer testicular y el 37% con otros tumores¹¹. Los hombres con enfermedad de Hodgkin generalmente presentan parámetros de baja calidad¹²⁻¹⁵.

Un estudio de Bahadurt en 2005 realizado en 776 hombres con cáncer, mostró una significativa reducción en la

Tabla 1 Consecuencias del tipo de cáncer en la función reproductiva

Autor	N	Tipo de cáncer	Resultados	Significancia
Hallak J et al., 1998 ²	342	Cáncer testicular. Linfoma de Hodgkin. Otros tipos de cáncer	No se encontraron diferencias significativas entre los tipos de cáncer, pero si hubo disminución de la calidad	(0.66-0.99)
Chang HC et al., 2006 ³	75	Leucemia. Cáncer testicular. Linfoma	Disminución significativa en pacientes con leucemia mieloide y con tumor extragonadal de células germinales	(0.01)
Williams IV et al., 2009 ⁴	409	Cáncer testicular. Linfoma de Hodgkin. Linfoma no Hodgkin. Sarcoma. Cáncer de próstata. Otros tipos de cáncer	Los hombres con cáncer de testículo estadísticamente tienen menor calidad del semen en comparación con aquellos que presentan otros tumores malignos	< 0.05
Jørgensen N et al., 2010 ⁵	858	Cáncer testicular	La calidad dependerá de la edad del paciente con cáncer testicular	< 0.05
Bizet P et al., 2012 ⁶	1007	Linfoma de Hodgkin. Linfoma no Hodgkin. Cánceres hematológicos. Seminomas. Cáncer testicular. Otros tipos de cáncer	Disminución en todos los parámetros seminales. Siendo mayor en concentración seminal	(0.05-0.001)
Keene DJB et al., 2012 ⁷	180	Leucemia aguda. Linfoma de Hodgkin. Linfoma no Hodgkin. Tumor maligno de hueso. Cáncer Testicular. Otros tipos de cáncer	La calidad del semen depende del tipo de cáncer	< 0.0001
Degl'Innocenti S et al., 2013 ⁸	623	Cáncer hematológico. Cáncer testicular. Otros tipos de cáncer	Hubo diferencias en los parámetros seminales, aún así no hubo un patrón entre los diferentes tipos de cáncer, fue variable	< 0.0001

concentración espermática en pacientes con cáncer testicular, pero no varió en otros pacientes con tumores malignos. En otro estudio se demostró que los pacientes con cáncer testicular tenían concentraciones espermáticas menores a los parámetros de la OMS antes de empezar el tratamiento¹⁶, en cuanto a la integridad del ADN se ha demostrado que es mayor en pacientes en tratamiento que antes de empezarlo, sin embargo hay evidencia para sugerir que el tipo de cáncer y su malignidad no afecta la calidad del ADN espermático¹⁷.

Efectos del tratamiento del cáncer en la calidad seminal

La quimioterapia afecta negativamente a la espermatogénesis, ya sea de forma transitoria o permanente. Estos fármacos dañan directamente la proliferación de las células, por lo que en estadios tempranos de la diferenciación de los espermatozoides son muy sensibles a estos agentes. Sin embargo, los precursores de la espermatogénesis pueden dañarse debido a los efectos acumulativos de múltiples dosis de quimioterapia¹⁸. Las células germinales en etapa avanzada, es decir, espermatocitos y espermátides, son menos sensibles a la quimioterapia, ya que no se están dividiendo, y

esto explica el hallazgo de algunos espermatozoides inmediatamente después de la quimioterapia con una lenta disminución en los recuentos en los meses siguientes. La función de las células de Leydig parece estar menos afectada por la quimioterapia a menos que el factor endocrino disminuya la producción de testosterona y la falta de esta hormona sea la consecuencia de la disminución del tamaño testicular y el mal funcionamiento del estroma¹⁹⁻²¹.

La mejoría en los protocolos de quimioterapia se ha traducido en menores tasas de infertilidad, aunque la azoospermia después del tratamiento sigue siendo preocupante. Cuando los hombres se convierten en azoospermicos después del tratamiento, algunos estudios reportan que sólo del 20%-50% de estos hombres tendrá una cierta recuperación de la espermatogénesis, mientras que otros informan que ésta puede ser de hasta el 80% dependiendo del tipo de cáncer y el régimen de quimioterapia²².

Los agentes alquilantes que incluyen cisplatino son utilizados para el cáncer testicular y tienen un alto riesgo de azoospermia, particularmente cuando se combina con ifosfamida. El riesgo de azoospermia permanente parece ser dosis-dependiente²³⁻²⁵. Del mismo modo, la mayoría de los tratamientos para la enfermedad de Hodgkin también aumenta el riesgo de azoospermia¹⁵. El impacto de los

agentes quimioterapéuticos más nuevos como taxanos y anticuerpos monoclonales aún están siendo estudiados^{26,27}.

La radioterapia afecta negativamente a la espermatogénesis, ya sea de manera transitoria o permanente, por inducir directamente daño al ADN. El efecto nocivo de la radioterapia en la función gonadal dependerá de la dosis total, la fuente de la radiación, la protección gonadal, la cantidad de radiación dispersa y la susceptibilidad individual¹. La dimensión de la parte a radiar debe ser definida para que la protección de los otros órganos este considerada al igual que el técnico que realice la radiación, ésta debe ser de forma obligatoria y rutinaria, sin embargo, una pequeña cantidad de radiación dispersa es inevitable. Tan sólo 0.15 Gy pueden resultar en la producción de espermatozoides deteriorados. Las dosis más alta de 0.5 Gy suelen dar lugar a azoospermia reversible. Los parámetros del semen a menudo llegan a su punto más bajo dentro de los 4 a 6 meses después del tratamiento. Dosis más altas de 2.5 Gy pueden producir azoospermia prolongada o permanente. La función de las células de Leydig se ve afectada cuando alcanzan dosis de mayor a 15 Gy²⁸. Los tratamientos para tumores malignos tales como leucemia y cáncer testicular, la radiación total del cuerpo antes de trasplantes de médula ósea suelen dar lugar a un daño irreversible a las espermatogonias y puede producir esterilidad permanente^{15,20,21}. Se explica brevemente en la figura 1.

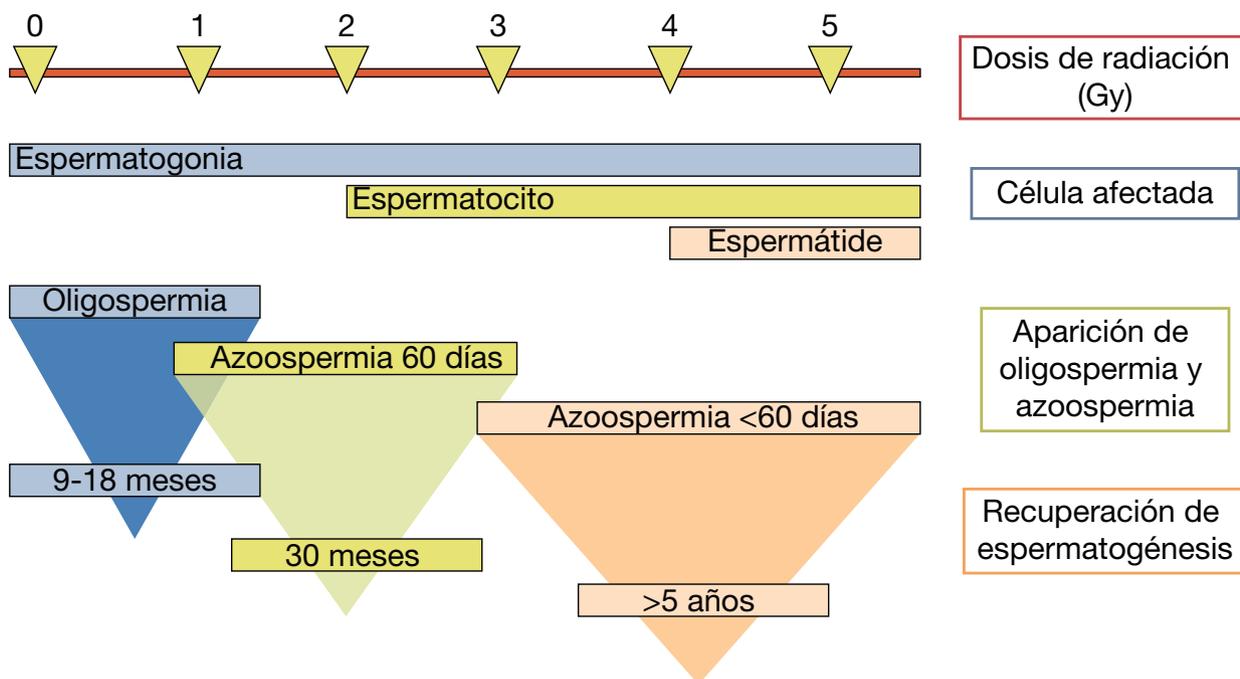
Otro tratamiento indicado es la resección parcial o total del órgano afectado, en este caso del testículo, próstata u otros órganos que afectan directamente el desempeño reproductivo como la vejiga y algunos ganglios -por ser la vía linfática la más común para la propagación de células cancerígenas-. Este procedimiento es conocido como disección de

ganglios linfáticos retroperitoneales (LRP). En hombres con cáncer testicular puede causar infertilidad como resultado de la disfunción eyaculatoria debido al daño del plexo pélvico²⁹, diversos estudios han demostrado sus ventajas y desventajas. Se ha reportado la influencia del cáncer en la parte baja de la cavidad abdominal con riesgos metastásicos que podrían ocasionar disfunción tanto testicular por diseminación, o daño físico por obliteración de flujo sanguíneo y alteraciones hormonales³⁰.

Respecto a la fragmentación de ADN espermático también hay varios resultados, McDowell et al. (2013) no encontró diferencias entre el grupo control y los pacientes con cáncer testicular³¹; Meseguer tampoco encontró diferencias entre pacientes con cáncer testicular y otros tipos de cáncer¹⁷. Otros estudios señalan la actividad mutagénica de las radiaciones, particularmente las deleciones en el cromosoma Y que ha sido asociado con azoospermia 15% y con oligospermia severa 5%-10%, debido a la incapacidad del genoma haploide de recombinarse y recuperar la información perdida, lo cual hace que la línea germinal sea defectuosa y no lleguen a adquirir la maduración necesaria³².

Fertilidad en pacientes sobrevivientes

La fertilidad en pacientes que tuvieron tratamiento contra el cáncer es difícil de recuperar, y están ampliamente reportados por la literatura como se muestra en la tabla 2. Esta recuperación es de lenta evolución, puede tardarse hasta años y su calidad es variable siendo indiscutible la necesidad de acudir a la reproducción asistida. Aproximadamente, el 15%-30% de los sobrevivientes de cáncer infantil tienen infertilidad permanente³³.



Adaptación Howell y Shalet 2005²⁰.

Figura 1 Deterioro de la espermatogénesis respecto a la dosis de radiación.

Tabla 2 Porcentaje de recuperación de la espermatogénesis después de tratamiento anticancerígeno

Autor	N	Tratamiento	Tiempo de recuperación de la fertilidad	Porcentaje de recuperación de la espermatogénesis (%)
Hansen PV et al., 1990 ¹⁹	27 seminomas. 24 tumores de células germinales no seminomatosos de testículo	Quimioterapia	5-9 años, depende el tipo de cáncer, tipo y cantidad de quimioterapia	5 años: 61% 9 años: 84%
Hansen SW et al., 1990 ³⁴	31 con cáncer testicular no seminomatoso	Quimioterapia	27% presentaron azoospermia por más de 5 años	No hubo recuperaciones significativas después de los 2 años. La mayoría presentó oligospermia hasta los 9 años postratamiento
Centola GM et al., 1994 ³⁵	56 con algún tumor testicular	Radioterapia	Después de un año, depende de la cantidad de la radiación	1 año: 50% 2.5 años: 90%
Lampe H et al., 1997 ³⁶	Inicial: 170 Final: 80	Quimioterapia	Un año después del tratamiento	2 años: 40% 5 años: 80%
Crha I et al., 2009 ³⁷	Inicial: 619 Final: 545	Quimioterapia Radioterapia	Dependiendo del tipo de cáncer 14.7 meses	La inseminación 4 parejas (12.5%) (9 ciclos, 2 a término) e ICSI para 28 parejas (87.5%) ICSI (44 ciclos), 13 embarazos y 9 a término
Fossa S et al., 2008 ³⁸	Inicial: 35 Final: 20	Quimioterapia, cisplatino	Uno a 2 años, dependiendo la cantidad de tratamiento con cisplatino	Embarazos 14 50%-60% espermatogénesis activa después de 2 años

ICSI: por sus siglas en inglés, *Intra-Cytoplasmic Sperm Injection*.

Muchos factores influyen en que la recuperación sea más lenta, la residualidad del medicamento antineoplásico, las cantidades de radiaciones y el tipo de cáncer parecen jugar un papel importante en la preservación de la fertilidad¹⁵. Cerca del 80% de pacientes sobrevivientes a cáncer testicular obtuvieron embarazos, aunque pasaron varios años para que esto se diera y el 95% de estos usaron algún método de reproducción asistida³⁹. Contrario a los pacientes con seminomas, estos tienen una alta probabilidad de ser azoospermicos de manera permanente por el daño ocasionado en las células epiteliales y por ende, en las células germinales, este daño es irreversible¹⁵.

Los sobrevivientes de linfoma de Hodgkin suelen experimentar azoospermia después del tratamiento. En función de los regímenes de quimioterapia y radioterapia, muchos pacientes recuperan un cierto grado de espermatogénesis, pero esto puede tomar de 5 a 10 años⁴⁰. Protocolos de tratamientos de linfoma no Hodgkin parecen ser menos gonadotóxicos que los utilizados para tratar la enfermedad de Hodgkin²⁰. Estrategias de trasplante de médula ósea para salvar la vida también pueden afectar a la fertilidad, con tasas de azoospermia van del 10% al 70% dependiendo de los agentes, dosis y radiación corporal empleados^{41,42}.

Los pacientes con cáncer genitourinario tienen más problemas debido a que las barreras anatómicas y la consecuente pérdida de funcionalidad repercuten directamente en la función reproductiva del paciente, el aumento de casos de tumores prostáticos en la población joven es de atención ya que la prostatectomía total está indicada en el 96% de los casos y las expectativas de tener una familia, en la mayoría de los casos, no se han cumplido; la criopreservación

de espermatozoides es la alternativa inmediata para poder hacer uso de este, después de sobrevivir a un tratamiento y realizarse como padre. Nuevas terapias han sido estudiadas para los tumores de células uroteliales como el uso del bacilo de Calmette-Guerin (BCG) que ha resultado tener menos daño contraproducente que protocolos con mitomicina C⁴³, otros como los tratamientos con yodo reactivo presentan muy altas tasas de disfunción testicular⁴⁴⁻⁴⁶.

Obtención de semen

El semen lo conforman 2 componentes, el paquete celular (espermatozoides) y el plasma seminal, el cual se encarga de la nutrición y el metabolismo de los espermatozoides, generalmente la obtención más frecuente es la masturbación. Para muchos hombres es un poco incómodo y aún más para los jóvenes quienes han alcanzado su madurez fisiológica pero no mental, asumir un evento como este, la orientación psicológica y el acompañamiento de los padres es de vital importancia en el tratamiento de esta población.

Los protocolos varían según el banco de semen, pero a nivel mundial se maneja la muestra a 37°C, el semen puede colectarse en casa, procurando no pasar de 40 minutos para llegar al laboratorio, deben tomarse todas las porciones seminales en recipientes especiales los cuales son analizados en el laboratorio donde se comprueba su calidad, en programas de pacientes oncológicos las muestras se tratan con especial cuidado ya que podrían ser muestras únicas. La criopreservación se hace con la presencia de un medio que es capaz de nutrir a los espermatozoides durante su

congelación, la cual se realiza a temperatura de -196°C pudiendo permanecer allí durante décadas, el control del nitrógeno líquido y el almacenamiento de las muestras es de suma importancia, ya que un bajo nivel de este puede ocasionar descongelaciones abruptas que comprometerían la vitalidad de las muestras de manera definitiva, y su uso no sería viable. La OMS ha tratado de estandarizar las técnicas necesarias para la correcta evaluación de los parámetros seminales, y la mayoría de los centros utilizan esta normativa como base para sus estudios⁴⁷.

Las principales causas de no criopreservar hacen mención a la ansiedad por la enfermedad, las creencias religiosas, los dolores por los efectos de los tratamientos, entre otras. El reto actual es el manejo de la población masculina adolescente, actualmente no hay directrices de acompañamiento, aún así se han desarrollado estrategias psicológicas que han mejorado la actitud de los padres, abren posibilidades para que la esperanza se cree en sus hijos y ayudan a la estabilidad emocional para afrontar un evento como el ser diagnosticado con cáncer. En pacientes con padecimientos graves donde su movilidad es limitada o nula, la recuperación quirúrgica es una opción para estos -biopsia testicular y resección de uno o ambos testículos está indicada para estos casos-

Bancos de semen

Cerca de un 50% de los pacientes con cáncer buscan una posibilidad para ser padres y la única alternativa para esto, es entrar en programas de criopreservación, sin embargo la gran mayoría de no lo hacen por falta de información. Hace una década la cantidad de bancos de semen era reducida debido a la alta inversión que deben tener, actualmente hay una alta afluencia de estos centros especializados en andrología con programas tanto de donadores como criopreservación espermática en pacientes oncológicos⁴⁸.

Las mutaciones y deleciones génicas han sido reportadas en animales desde los comienzos de la quimioterapia hasta 2 años después de concluido el tratamiento⁴⁹, algunos estudios recomiendan criopreservar semen hasta 10-15 días después de comenzar el tratamiento y esperar cerca de 12 a 18 meses de finalizado para continuar con los tratamientos de fertilidad⁵⁰.

En 1995, Koeppel informó sobre 50,000 nuevos casos de cáncer en hombres menores de 35 años, este se dio cuenta de que con el aumento de las tasas de supervivencia y los efectos nocivos del tratamiento sobre la fertilidad debía dirigir sus intereses a generar programas de criopreservación del semen, los cuales deberían ofrecerse a estos pacientes⁵¹. El autor reconoció las controversias en cuanto a la practicidad y el uso de los bancos de esperma, incluyendo los desafíos que enfrentan los profesionales de la salud en la discusión de temas tan sensibles con los pacientes¹⁵.

Debe educarse y crearse estrategias de abordaje del tema con estos pacientes⁴⁸. Los materiales educativos que incluyen folletos y material interactivo para los pacientes y sus familias son útiles. El desarrollo de estos programas deben ser claros y transparentes, la parte emocional es muy frágil en estos casos, además, los centros deben adecuar de manera preventiva consultorios de toma de semen con fácil acceso, ya que cualquier urgencia puede presentarse.

La edad exacta en la que la producción de esperma varía de factores individuales. La ampliación de los testículos representa una transición de fase Tanner I a II, después de este tiempo la espermatogénesis comienza a ser probable, incluso antes de la adolescencia. Sin embargo, en los adolescentes con cáncer, que van desde los 14 hasta a los 17 años, se han encontrado buenos parámetros seminales para ser criopreservados⁵². Hagenäs en 2010 realizó un estudio con 86 niños con edades de 12 a 18 años, que entraron a programas de quimioterapia por diversos tumores; después del tratamiento, el 88.4% tenían espermatozoides y el 93.4% de estos tenían calidad suficiente para ser criopreservado^{15,53}.

La criopreservación de gametos provenientes de niños y adolescentes es un tema crítico y debe ser manejado de una manera muy profesional⁵⁴. La decisión o no de preservar está limitada a muchos factores, entre ellos el pronóstico, el tipo de cáncer y el consentimiento de los padres que en muchos casos son los responsables de la autorización de estos procedimientos, evidenciando la necesidad de programas de acompañamiento para pacientes oncológicos y sus familiares^{55,56}.

En casos donde los pacientes presenten azoospermia de manera permanente por cualquier razón, la recuperación quirúrgica es una opción, esto debe ser concertado con el oncólogo, urólogo, cirujano y Centro de Reproducción Asistida, ya que en la mayoría de los casos el tratamiento debe empezarse lo más rápido posible y el trabajo en conjunto es indispensable. La literatura reporta variaciones en las técnicas de obtención, desde la sedación del paciente hasta la microdissección testicular para la obtención de espermatozoides, todas bajo el mismo fundamento. La extracción de espermatozoides del testículo (TESE) hace referencia a la punción con aguja; esta recuperación puede contaminarse con sangre, lo cual la hace un procedimiento de cuidado y experiencia, aún así hay recuperación de espermatozoides capaces de fecundar⁵⁷⁻⁵⁹. Otras técnicas de recuperación son variaciones de ésta como la TESE con microdissección, con un 50% de éxito después de la quimioterapia⁶⁰. La obtención de espermatozoides de epidídimo está indicada en casos de azoospermia obstructiva, pacientes con prostatectomía parcial o total y por la aparición de células tumorales^{59,61}. Éstas y otras técnicas se explican en la tabla 3. Cuando hay casos avanzados de cáncer y el paciente sea incapaz de incorporarse, eyacular o presente eyaculación retrógrada, las técnicas de recuperación espermática se basan en la electroeyaculación y electrovibración, diversas tasas de embarazos han sido reportadas con el uso de estas células⁶²⁻⁶⁴.

Resultados de criopreservación

En la mayoría de los casos las terapias y el mismo cáncer disminuyen la calidad espermática, la utilización de protocolos que conlleven radiación y/o quimioterapia la disminuyen aún más, los resultados de la utilización de células en reproducción asistida han sido reportadas de manera individual, mostrando diferencias y contradicciones entre ellos, la aparición de técnicas donde el número de células necesarias para la fecundación es mínima, como es el caso de la inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI, por

Tabla 3 Técnicas de obtención de espermatozoides en pacientes con azoospermia clínica

Técnica	Indicación	Complicaciones	Éxito en la extracción	Éxito técnicas de reproducción asistida
Microaspiración espermática epididimaria (MESA)	Azoospermia obstructiva. Ausencia congénita de los conductos deferentes	NR	74%-80% de recuperación	MESA-ICSI Dos pronúcleos 45%. Embarazo 50% (Silber S et al., 1994) ⁶¹
	Azoospermia obstructiva	Complicaciones locales fueron del 4.7%	77% de recuperación	Tasa de embarazo-ICSI 22.5% (Heidenreich A et al., 2000) ⁶⁵
Aspiración percutánea de espermatozoides epididimarios (PESA)	Azoospermia obstructiva	NR	93% de recuperación	Tasa de embarazo-ICSI 45%-47% (Lin YM et al., 2000) ⁵⁹
	Vasectomía. Azoospermia inespecífica	NR	82% de recuperación primera vez, después de hasta 3 PESA hubo 87% de recuperación	Tasa de embarazo 38% (Glina S et al., 2003) ⁶⁶
	Azoospermia obstructiva	NR	61% de recuperación	Tasa de embarazo 39%-56% (Lin YM et al., 2000) ⁵⁹
Recuperación espermática testicular (TESE) o biopsia testicular	Azoospermia obstructiva	NR	Primera vez 26.3% Repetición 36.4%	Tasa de embarazo-ICSI 37.5% (Pasqualotto FF et al., 2003) ⁶⁷
	Azoospermia obstructiva. Resección quirúrgica testicular	Complicaciones como hematomas, abscesos, fibrosis	Hipoespermatogénesis (79%). Detención de la maduración (47%). Seminoma (24%) (Su 1999)	43% ICSI, 29% implantación (Friedler S et al., 1997) ⁵⁷
	Criptorquidismo	NR	74% de recuperación	Fertilización ICSI 62%. Embarazos 43% (Van Steirteghem A et al., 1998) ⁶⁸
Aspiración de espermatozoides testiculares (TESA) o aspiración con aguja fina de espermatozoides testiculares (TEFNA)	Azoospermia no obstructiva	NR	58% de recuperación	Fertilización ICSI 59%. Embarazos 36% (Van Steirteghem A et al., 1998) ⁶⁸
	Azoospermia obstructiva. Ausencia congénita de los conductos deferentes	Inflamación posquirúrgica	74%-80% de recuperación	TESE-ICSI Dos pronúcleos 46%. Embarazo 43% (Silber S et al., 1994) ⁶¹
Aspiración de espermatozoides testiculares (TESA) o aspiración con aguja fina de espermatozoides testiculares (TEFNA)	Azoospermia obstructiva	Complicaciones locales fueron del 3.9%	77% de recuperación	Tasa de embarazo-ICSI 19.5% (Heidenreich A et al., 2000) ⁶⁵
	Azoospermia obstructiva. Resección quirúrgica testicular	Anestesia general	NR	11% ICSI, 13% implantación (Friedler S et al., 1997) ⁵⁷
Aspiración percutánea testicular guiada por ultrasonido (USTSA)	Azoospermia inespecífica	Anestesia general	USTSA 94% vs. TSA (no guiada por ultrasonido) 83%	No se encontraron diferencias en tasa de embarazos (Belenky A et al., 2001) ⁶⁹

MESA con estimulación eléctrica	Ausencia bilateral congénita de los conductos deferentes. Casos fallidos de vasectomía	Anestesia general	NR	Estimulación eléctrica, hubo mayor recuperación en pacientes con falla en vasectomía (Yamamoto M et al., 1996) ⁷⁰
Vaso-vasostomía (VVS)	Azoospermia obstructiva	Complicaciones locales fueron del 3.9%	77% de recuperación	Tasa de embarazo 52% (Heidenreich A et al., 2000) ⁶⁵

NR: no reportado; ICSI: por sus siglas en inglés, *Intra-Cytoplasmic Sperm Injection*.

sus siglas en inglés, *Intra-Cytoplasmic Sperm Injection*) y sus variaciones, hacen que las probabilidades de tener un hijo aumenten⁷¹⁻⁷³.

Parte de los estudios se muestran en la tabla 4, los resultados de estas investigaciones son una base científica a una opción de esperanza, por así llamarlo, para pacientes oncológicos que aún están indecisos en criopreservar. Muchos de estos varían tanto en la población estudiada, como en los métodos utilizados para realizar el estudio, las tasas de embarazos obtenidos varían dependiendo el tipo de tratamiento y el tipo de cáncer, la conclusión es que las técnicas de reproducción asistida más ICSI, tienen una mayor probabilidad de éxito y deben ser consideradas como una opción en ciclos con pacientes sobrevivientes al cáncer.

Los estudios realizados en células madre han abierto la posibilidad para una nueva opción de preservación de fertilidad, el trasplante de células germinales cultivadas *in vitro* y los injertos testiculares abren una nueva esperanza para la obtención y preservación de estos gametos⁸⁰⁻⁸². También la criopreservación de células 1n (espermátides y/o espermatozoides) han alcanzado avances significativos en cultivos de maduración de espermatozoides⁸³ y en trasplantes autólogos con separación de espermatogonias afectadas, esta última estaría indicada para niños que aún no han empezado la producción de espermatozoides, estos estudios se han realizado en primates y suponen buenos resultados a largo plazo^{15,84}.

Otro campo interesante es el de la genómica. Grupos de investigación en cáncer como el del "Atlas del genoma del cáncer" (TCGA, por sus siglas en inglés, *The Cancer Genome Atlas*), busca realizar los mapas genéticos de los tipos y subtipos de cáncer, que ascienden a 200, el conocer el error genético y poderlo detectar abre un nuevo campo en el diagnóstico temprano, que hasta ahora ha sido la manera más relevante de curar junto con los medicamentos que tenemos en la actualidad^{85,86}.

La detección de marcadores tumorales ha sido desde la última década parámetros determinantes en el diagnóstico temprano, actualmente ha ido en aumento su valor predictivo en recidivas postratamiento, tomando importancia clínica; los marcadores son sustancias producidas por las células normales que al tornarse cancerosas aumentan la concentración de estos, tanto en hiperplasias benignas como malignas, su diferenciación será importante y concluyente para la determinación del tratamiento; diversos

estudios han llegado a presentar contradictorios resultados, debido a la diversidad de los diseños experimentales y la utilización de nueva tecnología hace que su repetitividad sea nula, aún así, estudios conjuntos con las ramas de la genómica, como la proteómica abren una esperanza para el avance en la detección temprana.

Los estudios realizados con células madre han estado limitados por el riesgo a la reaparición de células tumorales, se basa en la teoría de la señalización celular⁸⁷, está aún en investigación y la capacidad de inactivarla será la mejor prueba para la radicación total del cáncer, estudios en el uso de telomerasas y enzimas de restricción podrían traer buenos resultados⁸⁸⁻⁹⁰.

Conclusiones

El manejo humano del paciente oncológico sin importar su edad es de cuidado y mucha paciencia, el acercamiento y las estrategias para desarrollar cualquier intervención u opción, sea la de un tratamiento nuevo o como en este caso de preservar su fertilidad, es de vital importancia.

Los avances en la investigación y en las técnicas de reproducción asistida cada vez obtienen mayores tasas de embarazos a término; la obtención de espermatozoides ya tiene varias técnicas que han sido perfeccionadas en los últimos años. Todo esto conforma la base para que le sea ofrecida esta opción. La esperanza es un bien psicológico para la aceptación y la recuperación de la calidad de vida después de un largo tratamiento, además de apoyar al fortalecimiento de lazos familiares tan importantes para estos casos y aún más en pacientes jóvenes y niños.

Por lo tanto, la criopreservación de semen es la principal opción para la preservación de la fertilidad, centros de reproducción asistida deben generar programas especiales para estos casos. La recomendación final es que se lleve a cabo antes de empezar cualquier tratamiento, la recuperación de procesos fisiológicos normales como la espermatogénesis es lenta, casi toma años y a veces no se da, la prevención debe ser fomentada y la utilización de estos servicios también.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Tabla 4 Tasas de embarazo con el uso de semen criopreservado de pacientes oncológicos

Autor	N	Porcentaje de criopreservación	Porcentaje de uso semen criopreservado	Porcentaje de recuperación gametogénesis	Tasa de embarazo
Schmidt KLT et al., 2004 ³⁹	67	82%	58%	43% con SPZ móviles 57% azoospermia	IIU: 14.8% ICSI: 38.6% ICSI-FER: 25%
Hourvitz A et al., 2007 ²²	118	169%	100% después de los 3 meses hasta 19 años	77.8% presentaron azoospermia	56.8%, 126 niños nacidos y 11 abortos espontáneos
Van Casteren NJ et al., 2008 ⁷⁴	Inicial: 557 Final: 466	749 muestras se criopreservaron	29 se eliminaron, 42 se usaron (5.61%) ICSI: 53 FIV: 32 CRIO-ET: 9 IIU: 7	NR	ICSI: 8% FIV: 16% CRIO-ET: 2% IIU: 1%
Navarro P et al., 2010 ⁷⁵	101	99% aptas para criopreservación	4%	NR	NR
Freour T et al., 2012 ⁷⁶	1,042	2,577	82 pacientes	NR	FIV: 112 con 23.2% de embarazos IIU: 66 con 12% de embarazos
Hsiao W et al., 2011 ⁵⁸	73	Recuperación TESE 37%-42.9%	NR	37% después de TESE	ICSI: 57.1% nacidos vivos 42%
Chung K et al., 2013 ⁷⁷	130	110 muestras aptas para criopreservación	4/110	11/34 presentaron deterioro después de tratamiento. 4/34 presentaron azoospermia	ICSI: 3
Botchan A et al., 2013 ⁷⁸	682	682	70 pacientes lo usaron hasta después de 20 años	NR	46/184 ICSI: 37.4% IIU: 11.5 FIV: 0
Žáková J et al., 2014 ⁷⁹	523	523	34 pacientes (6.5%)	Azoospermia fue diagnosticada en 34 hombres (6.1%) postratamiento	ICSI 34 16 embarazos (34.8%)

NR: no reportado; ICSI: por sus siglas en inglés, *Intra-Cytoplasmic Sperm Injection*; IIU: inseminación intrauterina; FIV: fertilización *in vitro*; CRIO-ET: criotransferencia de embriones.

Financiamiento

No se recibió patrocinio para llevar a cabo este artículo.

Bibliografía

- Lee SJ, Schover LR, Partridge AH, et al. American Society of Clinical Oncology Recommendations on Fertility Preservation in Cancer Patients. *JCO* 2006;24:2917-2931.
- Hallak J, Hendin BN, Thomas Jr AJ, et al. Investigation of fertilizing capacity of cryopreserved spermatozoa from patients with cancer. *J Urol* 1998;159:1217-1220.
- Chang H-C, Chen S-C, Chen J, et al. Initial 10-year Experience of Sperm Cryopreservation Services for Cancer Patients. *J Formos Med Assoc* 2006;105:1022-1026.
- Williams IV DH, Karpman E, Sander JC, et al. Pretreatment semen parameters in men with cancer. *J Urol* 2009;181:736-740.
- Jørgensen N, Vierula M, Jacobsen R, et al. Recent adverse trends in semen quality and testis cancer incidence among Finnish men. *J Androl* 2011;34:e37-e48.
- Bizet P, Saias-Magnan J, Jouve E, et al. Sperm cryopreservation before cancer treatment: a 15-year monocentric experience. *Reprod Biomed Online* 2012;24:321-330.
- Keene DJ, Sajjad Y, Makin G, et al. Sperm banking in the United Kingdom is feasible in patients 13 years old or older with cancer. *J Urol* 2012;188:594-597.
- Degl'Innocenti S, Filimberti E, Magini A, et al. Semen cryopreservation for men banking for oligospermia, cancers, and other pathologies: prediction of post-thaw outcome using basal semen quality. *Fertil Steril* 2013;100:1555-63.e3.
- Ragni G, Somigliana E, Restelli L, et al. Sperm banking and rate of assisted reproduction treatment. *Cancer* 2003;97:1624-1649.
- Lass A, Akagbosu F, Abusheikha N, et al. A programme of semen cryopreservation for patients with malignant disease in a tertiary infertility centre: lessons from 8 years' experience. *Hum Reprod* 1998;13:3256-32561.
- Colpi GM, Contalbi GF, Nerva F, et al. Testicular function following chemo-radiotherapy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2004;113,Supplement:S2-S6.
- Viviani S, Ragni G, Santoro A, et al. Testicular dysfunction in Hodgkin's disease before and after treatment. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1991;27:1389-1392.

13. Sanger WG, Olson J, Sherman J. Semen cryobanking for men with cancer--criteria change. *Fertil Steril* 1992;58:1024-1027.
14. Hendry W, Stedronska J, Jones C, et al. Semen Analysis in Testicular Cancer and Hodgkin's Disease: Pre-and Post-Treatment Findings and Implications for Cryopreservation. *Brit J Urol* 1983;55:769-773.
15. Williams DH. Sperm banking and the cancer patient. *Ther Adv Urol* 2010;2:19-34.
16. Bahadur G, Ozturk O, Muneer A, et al. Semen quality before and after gonadotoxic treatment. *Hum Reprod* 2005;20:774-781.
17. Meseguer M, Santiso R, Garrido N, et al. Sperm DNA fragmentation levels in testicular sperm samples from azoospermic males as assessed by the sperm chromatin dispersion (SCD) test. *Fertil Steril* 2009;92:1638-1645.
18. Schrader M, Müller M, Straub B, et al. The impact of chemotherapy on male fertility: a survey of the biologic basis and clinical aspects. *Reprod Toxicol* 2001;15:611-617.
19. Hansen PV, Trykker H, Svennekjær IL, et al. Long-term recovery of spermatogenesis after radiotherapy in patients with testicular cancer. *Radiother Oncol* 1990;18:117-125.
20. Howell SJ, Shalet SM. Spermatogenesis After Cancer Treatment: Damage and Recovery. *JNCI Monographs* 2005;2005:12-17.
21. Meistrich M. Restoration of spermatogenesis by hormone treatment after cytotoxic therapy. *Acta Paediatr* 1999;88:19-22.
22. Hourvitz A, Goldschlag DE, Davis OK, et al. Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) using cryopreserved sperm from men with malignant neoplasm yields high pregnancy rates. *Fertil Steril* 2008;90:557-563.
23. Schuffner A, Ramosc L, Stocklera S, et al. Criopreservação de gametas-uma esperança para pacientes com câncer. *Rev Bras Cancerol* 2004;50:117-1206.
24. Pectasides D, Pectasides E, Papaxoinis G, et al. Testicular Function in Poor-Risk Nonseminomatous Germ Cell Tumors Treated With Methotrexate, Paclitaxel, Ifosfamide, and Cisplatin Combination Chemotherapy. *J Androl* 2009;30:280-286.
25. Ridola V, Fawaz O, Aubier F, et al. Testicular function of survivors of childhood cancer: a comparative study between ifosfamide-and cyclophosphamide-based regimens. *Eur J Cancer* 2009;45:814-818.
26. Trottmann M, Becker AJ, Stadler T, et al. Semen quality in men with malignant diseases before and after therapy and the role of cryopreservation. *Eur Urol* 2007;52:355-367.
27. Duffy C, Allen S. Medical and psychosocial aspects of fertility after cancer. *Cancer J (Sudbury, Mass)* 2009;15:27.
28. Matthews ML, Hurst BS, Marshburn PB, et al. Cancer, fertility preservation, and future pregnancy: a comprehensive review. *Obstet Gynecol Int* 2012;2012.
29. Fosså SD, Ous S, Åbyholm T, et al. Post-treatment Fertility in Patients with Testicular Cancer.: II. Influence of Cis-platin-based Combination Chemotherapy and of Retroperitoneal Surgery on Hormone and Sperm Cell Production. *Brit J Urol* 1985;57:210-214.
30. Jones RG, Thompson CB. Tumor suppressors and cell metabolism: a recipe for cancer growth. *Genes Dev* 2009;23:537-548.
31. McDowell S, Harrison K, Kroon B, et al. Sperm DNA fragmentation in men with malignancy. *Fertil Steril* 2013;99:1862-1866.
32. Aitken R, Krausz C. Oxidative stress, DNA damage and the Y chromosome. *Reproduction* 2001;122:497-506.
33. Tournaye H, Goossens E, Verheyen G, et al. Preserving the reproductive potential of men and boys with cancer: current concepts and future prospects. *Hum Reprod Update* 2004;10:525-532.
34. Hansen SW, Berthelsen JG, von der Maase H. Long-term fertility and Leydig cell function in patients treated for germ cell cancer with cisplatin, vinblastine, and bleomycin versus surveillance. *J Clin Oncol* 1990;8:1695-1658.
35. Centola GM, Keller JW, Henzler M, et al. Effect of Low-Dose Testicular Irradiation on Sperm Count and Fertility in Patients with Testicular Seminoma. *J Androl* 1994;15:608-613.
36. Lampe H, Horwich A, Norman A, et al. Fertility after chemotherapy for testicular germ cell cancers. *J Clin Oncol* 1997;15:239-245.
37. Crha I, Ventruba P, Zakova J, et al. Survival and infertility treatment in male cancer patients after sperm banking. *Fertil Steril* 2009;91:2344-2348.
38. Fosså SD, Åbyholm T, Normann N, et al. Post-treatment Fertility in Patients with Testicular Cancer. *Brit J Urol* 1986;58:315-319.
39. Schmidt KLT, Larsen E, Bangsbøll S, et al. Assisted reproduction in male cancer survivors: fertility treatment and outcome in 67 couples. *Hum Reprod* 2004;19:2806-2810.
40. Tal R, Botchan A, Hauser R, et al. Follow-up of sperm concentration and motility in patients with lymphoma. *Hum Reprod* 2000;15:1985-1988.
41. Anserini P, Chiodi S, Spinelli S, et al. Semen analysis following allogeneic bone marrow transplantation. Additional data for evidence-based counselling. *Bone Marrow Transpl* 2002;30.
42. Jacob A, Barker H, Goodman A, et al. Recovery of spermatogenesis following bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transpl* 1998;22.
43. Raviv U, Needleman DJ, Li Y, et al. Cationic liposome-microtubule complexes: Pathways to the formation of two-state lipid-protein nanotubes with open or closed ends. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:11167-11172.
44. Ma C, Kuang A, Xie J. Tratamiento con yodo radioactivo para el carcinoma tiroideo diferenciado con positividad para tiroglobulina y metástasis negativas al yodo radioactivo. *The Cochrane Library* 2009.
45. de Gonzalez AB, Curtis RE, Kry SF, et al. Proportion of second cancers attributable to radiotherapy treatment in adults: a cohort study in the US SEER cancer registries. *Lancet Oncol* 2011;12:353-360.
46. Rivkees SA, Mazzaferri EL, Verburg FA, et al. The treatment of differentiated thyroid cancer in children: emphasis on surgical approach and radioactive iodine therapy. *Endocr Rev* 2011;32:798-826.
47. Cooper TG, Noonan E, Von Eckardstein S, et al. World Health Organization reference values for human semen characteristics. *Hum Reprod Update* 2010;16:231-245.
48. Canada AL, Schover LR. Research Promoting Better Patient Education on Reproductive Health After Cancer. *JNCI Monographs* 2005;2005:98-100.
49. De Mas P, Daudin M, Vincent M-C, et al. Increased aneuploidy in spermatozoa from testicular tumour patients after chemotherapy with cisplatin, etoposide and bleomycin. *Hum Reprod* 2001;16:1204-1208.
50. Chatterjee R, Haines G, Perera D, et al. Testicular and sperm DNA damage after treatment with fludarabine for chronic lymphocytic leukaemia. *Hum Reprod* 2000;15:762-766.
51. Koepfel KM. Sperm banking and patients with cancer: Issues concerning patients and healthcare professionals. *Cancer Nurs* 1995;18:306-312.
52. Bahadur G, Ling KL, Hart R, et al. Semen production in adolescent cancer patients. *Hum Reprod (Oxford, England)* 2002;17:2654-2656.
53. Hagenäs I, Jørgensen N, Rechnitzer C, et al. Clinical and biochemical correlates of successful semen collection for cryopreservation from 12-18-year-old patients: a single-center study of 86 adolescents. *Hum Reprod* 2010;25:2031-2038.
54. Klosky JL, Randolph ME, Navid F, et al. Sperm cryopreservation practices among adolescent cancer patients at risk for infertility. *Pediatr Blood Cancer* 2009;26:252-260.
55. Ginsberg JP, Ogle SK, Tuchman LK, et al. Sperm Banking for Adolescent and Young Adult Cancer Patients: Sperm Quality,

- Patient, and Parent Perspectives. *Pediatr Blood Cancer* 2008;50:594-598.
56. Ginsberg JP, Carlson CA, Lin K, et al. An experimental protocol for fertility preservation in prepubertal boys recently diagnosed with cancer: a report of acceptability and safety. *Hum Reprod* 2010;25:37-41.
 57. Friedler S, Raziel A, Strassburger D, et al. Testicular sperm retrieval by percutaneous fine needle sperm aspiration compared with testicular sperm extraction by open biopsy in men with non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod* 1997;12:1488-1493.
 58. Hsiao W, Stahl PJ, Osterberg EC, et al. Successful Treatment of Postchemotherapy Azoospermia With Microsurgical Testicular Sperm Extraction: The Weill Cornell Experience. *J Clin Oncol* 2011;29:1607-1611.
 59. Lin YM, Hsu CC, Kuo TC, et al. Percutaneous epididymal sperm aspiration versus microsurgical epididymal sperm aspiration for irreparable obstructive azoospermia--experience with 100 cases. *J Formos Med Assoc* 2000;99:459-465.
 60. Meseguer M, Garrido N, Remohi J, et al. Testicular sperm extraction (TESE) and ICSI in patients with permanent azoospermia after chemotherapy*. *Hum Reprod* 2003;18:1281-1285.
 61. Silber SJ, Nagy ZP, Liu J, et al. Andrology: Conventional in-vitro fertilization versus intracytoplasmic sperm injection for patients requiring microsurgical sperm aspiration. *Hum Reprod* 1994;9:1705-1709.
 62. Kamischke A, Nieschlag E. Mini symposium: non-surgical sperm recovery: Part II. Treatment of retrograde ejaculation and anejaculation. *Hum Reprod Update* 1999;5:448-474.
 63. Ohl DA, Quallich SA, Sønksen J, et al. Anejaculation and retrograde ejaculation. *Urol Clin North Am* 2008;35:211-220.
 64. McMahon CG, Abdo C, Incrocci L, et al. Disorders of orgasm and ejaculation in men. *J Sex Med* 2004;1:58-65.
 65. Heidenreich A, Altmann P, Engelmann UH. Microsurgical vasovastomy versus microsurgical epididymal sperm aspiration/testicular extraction of sperm combined with intracytoplasmic sperm injection. *Eur Urol* 2000;37:609-614.
 66. Glina S, Fragoso JB, Martins FG, et al. Percutaneous epididymal sperm aspiration (PESA) in men with obstructive azoospermia. *Int Braz J Uro* 2003;29:141-146.
 67. Pasqualotto FF, Rossi-Ferragut LM, Rocha CC, et al. The Efficacy of Repeat Percutaneous Epididymal Sperm Aspiration Procedures. *J Urol* 2003;169:1779-1781.
 68. Van Steirteghem A, Nagy P, Joris H, et al. Results of intracytoplasmic sperm injection with ejaculated, fresh and frozen-thawed epididymal and testicular spermatozoa. *Hum Reprod* 1998;13:134-142.
 69. Belenky A, Avrech OM, Bachar GN, et al. Ultrasound-guided testicular sperm aspiration in azoospermic patients: A new sperm retrieval method for intracytoplasmic sperm injection. *J Clin Ultrasound* 2001;29:339-343.
 70. Yamamoto M, Hibi H, Miyake K, et al. Microsurgical Epididymal Sperm Aspiration Versus Epididymal Micropuncture with Perivascular Nerve Stimulation for Intracytoplasmic Sperm Injection to Treat Unreconstructable Obstructive Azoospermia. *Syst Biol Reprod Med* 1996;36:217-224.
 71. Hamberger L, Sjogren A, Lundin K, et al. Microfertilization techniques--the Swedish experience. *Reprod Fertil Dev* 1995;7:263-267.
 72. Sjögren A, Hardarson T, Andersson K, et al. Human blastocysts for the development of embryonic stem cells. *Reprod Biomed Online* 2004;9:326-329.
 73. Oehninger S, Morshedi M, Franken D. The Hemizona Assay for Assessment of Sperm Function. In: Carrell DT, Aston KI, eds. *Spermatogenesis*. USA: Humana Press; 2013. p. 91-102.
 74. van Casteren NJ, van Santbrink EJP, van Inzen W, et al. Use rate and assisted reproduction technologies outcome of cryopreserved semen from 629 cancer patients. *Fertil Steril* 2008;90:2245-2250.
 75. Navarro Medina P, Barroso Deyne E, Castillo Suárez M, et al. An analysis of our experience in cryopreservation of semen from cancer patients. *Actas Urol Esp (English Edition)* 2010;34:101-105.
 76. Freour T, Mirallie S, Jean M, et al. Sperm banking and assisted reproductive outcome in men with cancer: a 10 years' experience. *Int J Clin Oncol* 2012;17:598-603.
 77. Chung K, Donnez J, Ginsburg E, et al. Emergency IVF versus ovarian tissue cryopreservation: decision making in fertility preservation for female cancer patients. *Fertil Steril* 2013;99:1534-1542.
 78. Botchan A, Karpol S, Lehavi O, et al. Preservation of sperm of cancer patients: extent of use and pregnancy outcome in a tertiary infertility center. *Asian J Androl* 2013;15:382-386.
 79. Žáková J, Lousová E, Ventruba P, et al. Sperm Cryopreservation before Testicular Cancer Treatment and Its Subsequent Utilization for the Treatment of Infertility. *ScientificWorldJournal* 2014;2014.
 80. Goossens E, Van Saen D, Tournaye H. Spermatogonial stem cell preservation and transplantation: from research to clinic. *Hum Reprod* 2013;28:897-907.
 81. Honaramooz A, Snedaker A, Boiani M, et al. Sperm from neonatal mammalian testes grafted in mice. *Nature* 2002;418:778-781.
 82. Hermann BP, Sukhwani M, Winkler F, et al. Spermatogonial stem cell transplantation into rhesus testes regenerates spermatogenesis producing functional sperm. *Cell stem cell* 2012;11:715-726.
 83. Shin JY, Gupta MK, Jung YH, et al. Differential genomic imprinting and expression of imprinted microRNAs in testes-derived male germ-line stem cells in mouse. *PLOS ONE* 2011;6:e22481.
 84. Hermann BP, Sukhwani M, Salati J, et al. Separating spermatogonia from cancer cells in contaminated prepubertal primate testis cell suspensions. *Hum Reprod* 2011;26:3222-3231.
 85. Collins FS, Barker AD. Mapping the cancer genome. *Scientific American* 2007;296:50-57.
 86. Robinson JT, Thorvaldsdóttir H, Winckler W, et al. Integrative genomics viewer. *Nat. Biotechnol.* 2011;29:24-26.
 87. Pardal R, Clarke MF, Morrison SJ. Applying the principles of stem-cell biology to cancer. *Nat Rev Cancer* 2003;3:895-902.
 88. Nardella C, Clohessy JG, Alimonti A, et al. Pro-senescence therapy for cancer treatment. *Nat Rev Cancer* 2011;11:503-511.
 89. Shay J. Telomerase as a Target for Cancer Therapeutics. In: Roth JA, ed. *Gene-Based Therapies for Cancer*. New York: Springer; 2010. p. 231-49.
 90. Jahnukainen K, Ehmcke J, Hou M, et al. Testicular function and fertility preservation in male cancer patients. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2011;25:287-302.