

Titel**Fertilitetsbevaring hos mænd og drenge (i forbindelse med malign eller anden sygdom)****Forfattere**

Claus Yding Andersen
Mikkel Bandak
Christine Dahl
Tilde Veng Eskildsen
Jens Fedder (tovholder)
Henrik Hasle
Stine Gry Kristensen
Sine Lykkedegn
Jasmin Nissi
Tine Nørregaard Olesen
Jørgen Mogens Thorup
Bettina Troest

Korrespondance

Jens Fedder, Jens.Fedder@rsyd.dk & fedder@dadlnet.dk

Status

Første udkast til aktuel version:	01.12.2024
Diskuteret på DFS, dato:	07.03.2025
Korrigeret udkast, dato:	13.03.2026
Endelig guideline, dato:	15.03.2026
Guideline skal revideres seneste dato:	01.03.2030

Indholdsfortegnelse

Indledning: side 2
Afgrænsning af emnet: side 3
Litteratursøgning: side 4
Resume af kliniske rekommandationer: side 4
PICO A1: side 4
PICO A2: side 5
PICO A3: side 6
PICO A4: side 7
PICO B1: side 8

PICO B2	: side 8
PICO B3	: side 9
PICO B4	: side 10
Taksigelser	: side 10
Referencer	: side 11

Indledning

Fertilitetsbevaring hos mænd og drenge falder naturligt i to hovedgrupper: Nedfrysning af sæd, som foretages hos voksne mænd og teenagere, der producerer og er i stand til at frembringe ejakulater. Nedfrysning af testisvæv fra drenge, unge teenagere, der ikke er i stand til at ejakulere, samt unge, postpubertale mænd med fx Klinefelter syndrom før disse sættes i testosteronbehandling. Det skal understreges, at testisvæv udtaget fra fx postpubertale mænd med Klinefelter syndrom ikke kryopreserveres mhp. autotransplantation af vævet eller opmodning af spermatozoer *in vitro*. Hos denne patientgruppe høstes normalt kalibrerede *Tubuli seminiferi* ved såkaldt m-TESE, hvorefter isolerede spermatozoer og testisvævsfragmenter kryopreserveres efter samme procedurer som ved m-TESE i almindelighed (Fedder *et al.*, 2025b). Ved nordisk statusmøde i efteråret 2025 gav alle nordiske centre, som udfører m-TESE, udtryk for, at de kryopreserverer spermatozoer/testisvæv fra unge postpubertale mænd uden nogen aktuel partner forud for, at disse sættes i permanent testosteronbehandling.

Fertilitetsbevarende foranstaltninger for pubertale, post-pubertale unge og voksne mænd anvendes rutinemæssigt i landets fertilitetsklinikker eller i sædbanker i form af kryopræserving af ejakulater med levende spermatozoer (sædceller). Ved de offentlige fertilitetsklinikker blev der i 2023 i Danmark cryopreserveret sæd fra 656 mænd, der afleverede i alt 1322 ejakulater; den største andel fra Afdeling for Vækst og Reproduktion, RH. Hertil kommer at et ukendt antal mænd har fået cryopreserveret ejakulater i private sædbanker.

For præ-pubertale drenge i risiko for infertilitet er den eneste mulige strategi kryopræserving af immaturlig testikelvæv, idet *in vitro* modning af fremstillede iPS fortsat synes meget vanskelig (Kjartansdóttir *et al.*, 2012). I løbet af de seneste årtier er der gjort betydeligt fremskridt i forsøget på at kunne anvende immaturlig testikelvæv til etablering af spermatogenese, men behandlingen må fortsat betegnes som eksperimentel (Goossens *et al.*, 2020). Man arbejder flere steder i verden på at opmodne testikulære stamceller *in vitro* – men indtil videre uden større succes. De mest tillokkende metoder er autotransplantation af immaturlig testisvæv eller af sperm precursors (Wang *et al.*, 2022). Humant testisvæv autotransplanteret til scrotum kan overleve (Jensen *et al.*, 2024), men på trods af veldesignede eksperimenter i både Europa og USA har det ikke været muligt at opnå fuld spermatogenese hos mennesker efter autotransplantation. Samtidig mistænkes risiko for epigenetiske ændringer efter autotransplantation, hvilket p.t. søges kortlagt i bl.a. dyreeksperimentelle undersøgelser (Fedder *et al.*, 2025a).

Definitioner

Aneuploidi
Azoospermi

Afgrænsning af emnet (PICO-spørgsmål):

VEDR. NEDFRYSNING AF EJAKULATER:

Er nedfrysning af sædceller hos mænd og teenagere, som skal undergå chemo- og/eller stråleterapi en effektiv behandling?

PICO A1: Hvilke patienter bør tilbydes cryopreservering af ejakulater (som led i fertilitetsbevaring)?

PICO A2: Hvilken fryseprocedure bør anvendes (slow freeze vs. vitrification)?

PICO A3: Hvordan er graviditetschancerne for de enkelte diagnose-grupper efter anvendelse af sæd cryopreserveret som led i fertilitetsbevaring?

PICO A4: Har kemoterapi effekt på aneuploidi i spermatozoer, graviditetsrater og abnormiteter hos børn?

VEDR. NEDFRYSNING AF TESTISVÆV:

PICO B1: Er nedfrysning af testis biopsier indiceret for præpubertale drenge?

PICO B2: Hvilke patienter bør tilbydes cryopreservering af testis væv?

PICO B3: Hvilken teknik bør anvendes ved biopsi af testis hos præpubertale drenge (herunder unilat. vs. bilat.?)

PICO B4: Hvilken nedfrysningsmetode og hvilken type præparation (herunder medium/cryoprotectant) bør foretages inden nedfrysning?

NB: Det er lidt svært at definere kliniske top-relevante PICO-spørgsmål vedr. nedfrysning af testisvæv, da der fortsat er tale om eksperimentel behandling, og der er endnu ingen kliniske outcomes i form fx graviditeter!!!

Følgende PICO-spørgsmål er også blevet foreslået både før første udgave af denne guideline i 2024 og siden af SGK kort før første fremlæggelse i 2025:

Hvornår bør man tage testisbiopsier til kryopreservering? (Pragmatisk svar: Inden gonadotoxisk behandling).

Hvor lang tid kan vævet transporteres? (Svar baseret på tilgængelig evidens: 24 timer +).

Hvilken kvalitetskontrol bør udføres på vævet? (Svar: Et lille stykke til histologi for at bedømme antallet af kønsceller – og ved transplantation evt. en undersøgelse for kontaminering med maligne celler).

Hvornår skal vævet undersøges for tilstedeværelse af maligne celler? (Svar: Når der har været en malignitets-diagnose).

Vi kender dog ikke de præcise svar herpå, og selvom disse spørgsmål (der er behandlet indgående i fx Duffin et al., 2024 og den nye ESHRE guideline fra 2025) er vigtige og i disse år underkastes stor videnskabelig bevågenhed, kan de endnu ikke entydigt besvares. Vi har skrevet lidt pragmatiske svar baseret på den størst mulige tilgængelige evidens i parenteser. Samtidig har vi haft for øje, at vi forventes at begrænse antallet af PICO-spørgsmål.

Litteratursøgning

Mht. cryopreservering af ejakulater foreligger der et helt nyt systematisk review og meta-analysis (Li et al., 2024), som besvarer de samme spørgsmål, som vi ønsker at besvare, og hvor alle inkluderede artikler er opregnet i overskuelige tabeller. Der er foretaget litteratursøgning i PubMed, Medline, Embase, Cochrane og Web of Science. Da vi ikke ville kunne gøre dette bedre end det er sket i dette splinternye systematiske review, har vi valgt at lægge dette til grund for udarbejdelsen af den del af vores guideline, som omhandler cryopreservering af ejakulater.

Tilsvarende foreligger der et splinternyt, opdateret review vedr. cryopreservering af testisvæv fra drenge (Duffin et al., 2024), som er lagt til grund for systematisk gennemgang af de sidste spørgsmål i denne guideline.

Resume af kliniske rekommandationer

- 1a. Mænd i fertil alder, herunder teenagere som er i stand til at ejakulere, bør tilbydes cryopræserving af et eller flere ejakulater forud for kemoterapi eller anden potentielt fertilitetsnedsættende behandling.
 - 1b. Det bør tilstræbes, at der går minimum 3-6 måneder efter endt behandling med kemoterapi, før der deponeres sæd (jævnfør bl.a. Sundhedsstyrelsens anbefalinger).
 - 1c. Øvre aldersgrænse for deponering af sæd mhp. fertilitetsbehandling skal være i overensstemmelse med gældende lovgivning.
 - 1d. Mænd der ønsker at deponere sæd bør informeres om evt. øget risiko for sygdom hos børn forårsaget af grundsygdom og alder.
2. Drenge og unge teenagere, der ikke er i stand til at ejakulere, kan tilbydes cryopræserving af testisvæv, når de og deres forældre er informeret om og har accepteret, at der endnu er tale om eksperimentel behandling.

PICO A1

Efterspørgslen af fertilitetsbehandling i form af bl.a. cryopreservering af sæd har været stigende i de sidste mange år, og som det fremgår af indledningen, får et stort antal mænd cryopreserveret sæd i Danmark. Dette skyldes bl.a. at flere cancerpatienter overlever deres sygdom, hvilke har medført en betydelig øgning i antallet af langtidsoverlevere. Risikoen for infertilitet er størst efter behandling med højdosis alkyliserende kemoterapi og testisbestråling, men er også betydelig efter behandling med højdosis Cisplatin. For både kemoterapi og bestråling gælder det at jo større kumulativ dosis des større er risikoen for infertilitet.

De hyppigste diagnoser:

Testikelcancer

Leukæmi

Lymfomer (Hodgkin & non-Hodgkin)

Øvrige diagnoser er følgende.:

Knogle og bindevævscancer

Prostatacancer

Wegeners granulomatosis

Hjernetumores
Thyroidea cancer
Malignt melanom
Gastrointestinale cancere
Inguinalt histiocytom

Da cryopreservering af sæd er en overkommelig procedure hos teenagere og mænd i fertil alder, er der indikation for at tilbyde dette forud for kemoterapi ved både benigne og maligne tilstande, hvor der er gode udsigter til overlevelse. Cryopreservering af sæd er også en mulighed ved andre fertilitetsnedsættende behandlinger som f.eks. sklerose og hormonbehandling ved transkønnethed.

PICO A2

Slow freezing og vitrifikation er to forskellige metoder til kryopræserving af sæd, hver med sine fordele og ulemper. Slow freezing er en metode, hvor sæd nedkøles gradvist under kontrollerede forhold. Dette sker enten ved hjælp af specialdesignede programmerbare fryserer eller ved at placere prøverne i dampen fra flydende nitrogen. I denne proces anvendes kryobeskyttelsesmidler (CPAs) for at forhindre dannelse af intracellulære iskrystaller. Cellerne dehydreres langsomt, hvilket reducerer risikoen for isdannelse, men der er samtidig risiko for osmotisk stress under tilsætning og fjernelse af CPAs. Omvendt er **vitrifikation** en hurtigfrysningmetode, der undgår iskrystalformation ved at omdanne cellerne til en glaslignende tilstand. Denne metode kræver ultra-hurtig nedkøling, ofte gennem nedsækning i flydende nitrogen, og fungerer bedst med små prøvevolumina for at sikre tilstrækkelige kølehastigheder. Ved vitrifikation anvendes reducerede eller ingen permeable CPAs, hvilket mindsker toksicitetsrisikoen.

Metoderne påvirker sædkvaliteten forskelligt. Ved **slow freezing** kan dannelse af ekstracellulære iskrystaller skade cellemembraner og påvirke spermatozoernes morfologi. Denne metode er også forbundet med en højere risiko for haledefekter som følge af osmotisk stress, der opstår med CPAs. Alligevel kan slow freezing bevare motiliteten og levedygtigheden, især ved store prøvevolumina. På den anden side reducerer vitrifikation risikoen for skader, da der ikke dannes iskrystaller. Denne metode resulterer i en bedre bevaret morfologi med færre defekter i sædcellens hoved, mellemstykke og hale. Derudover forbedrer vitrifikation mitokondriemembranpotentialer, som er afgørende for sædcellernes motilitet og energiproduktion.

Effektivitet

Slow freezing er en tidskrævende proces, der egner sig godt til håndtering af store prøvevolumina. Vitrifikation er derimod en hurtigere metode, som både er mere omkostningseffektiv og tidsbesparende.

Anvendelse af kryobeskyttelsesmidler (CPAs)

Hvad angår brugen af CPAs, afhænger **slow freezing** i høj grad af permeable CPAs som glycerol eller DMSO, som kan være toksiske i høje koncentrationer. **Vitrifikation** anvender derimod ofte ikke-permeable CPAs, såsom sukrose, trehalose, eller ingen CPAs overhovedet, hvilket reducerer toksicitetsrisikoen markant. Kryobeskyttelsesfri vitrifikationsmetoder har desuden vist højere mitokondriel integritet og lavere DNA-fragmentering efter opvarmning.

Begrænsninger

Slow freezing er en langsommere proces, og håndteringen af CPAs kan føre til oxidativt stress, som forårsager DNA-fragmentering og reducerer sædcellernes levedygtighed.

Vitrifikation kan indebære en risiko for kontaminering i åbne systemer, hvor prøverne er direkte eksponeret for flydende nitrogen. Desuden er metoden begrænset i skalerbarhed, da vitrifikationsudstyr som cryoloops kræver små prøvevolumina. Det kan gøre metoden arbejdskrævende og mindre praktisk til større prøver.

På det kliniske område er **slow freezing** stadig den foretrukne metode til bulk-cryobanking af prøver med normozoospermi, da det er veletableret og effektivt til håndtering af større volumina. **Vitrifikation** udmærker sig imidlertid som en metode til at bevare sædmorfologi og mitokondriefunktion, især i små prøver og ved alvorlige fertilitetsproblemer hos mænd.

Begge metoder er effektive til kryopræserving af sæd, men valget afhænger af den kliniske kontekst. **Slow freezing** er bedst til store prøvevolumener og standardiseret bulk-opbevaring, mens **vitrifikation** er ideel til at bevare sædkvaliteten i små volumina eller prøver af lav kvalitet. Fremskridt inden for lukkede vitrifikationssystemer og optimerede CPA-protokoller kan yderligere forbedre anvendelighed og sikkerhed af vitrifikation, hvilket potentielt kan gøre det til den foretrukne metode i fremtiden.

PICO A3

Siden 2000 er dødeligheden hos mænd med cancerdiagnose faldet med 15 %. Mænd under 40 år har derfor håb om at deres fertilitet bliver bevaret trods kræftsygdom. Cryopræserving af sæd er den bedste metode til at indfri dette håb. Trods forbedrede behandlingsmuligheder ved cancersygdom mangler der, i mange lande, fortsat struktur og koordination imellem involverede parter. Sygdomsdiagnose, behandlingsprotokol og sædkvalitet før behandling er de mest signifikante faktorer for genoprettelse spermatogenesisen og opnåelse af faderskab efter behandling (Bahadur et al., 2005).

Testikelcancer og hæmatologiske cancere har de laveste sædtal forud for behandling (Vomstein et al., 2021; van Casteren et al., 2008). En af de hyppigste årsager til fertilitetsbevarende cryopræserving af sæd er testikulær germinalcelle cancer. Incidensen af TGCC i DK er 9,4/100.000. TGCC findes hyppigst hos 15-45-årige mænd. Der er en langtidsoverlevelse på 95 % (Znaor et al., 2014). Man tilbyder i Danmark cryopræserving af sæd til mænd i fertil alder, som skal have kemoterapi. Kun 10 % af den sæd, der cryopræserves i forbindelse med cancerdiagnose, anvendes senere (Ferrari et al., 2016; Li et al., 2024).

På baggrund af Li et al.'s systemiske review (2024) har man opnået en middel graviditetsrate på 28%, men denne afhænger selvfølgelig lidt af diagnosen. Det er ikke alle de inkluderede studier, som har opregnet graviditetsrater for alle diagnosegrupper. Ofte findes kun tal for en samlet gruppe af forskellige cancere. Testikelcancer, leukæmi og lymfomer indgår dog i 91% af de 65 studier, og her har man graviditetsrater ved testikelcancer på 28,3%, ved leukæmier på 32,6% og ved lymfomer på 17,1%. Fødselsrater er sædvanligvis ikke angivet og kan derfor ikke evalueres. I Li et al.'s studie var graviditetsrater lavest for lymfomer – og specielt ved diffust, storcellet B-lymfom, hvor sygdommen i sig selv menes at påvirke spermatogenesisen (Pallotti et al., 2021; Drechsel et al., 2023).

Mht. testiscancer fandtes i et dansk populationsbaseret kohorte studie (Bandak et al., 2021,) at:

1. Chancen for at opnå faderskab uden ART er nedsat sammenlignet med kontrolgruppen.
2. Ved unilateral orchiectomi uden efterbehandling er der faderskabschancer som er sammenlignelige med kontrolgruppen.
3. Ved unilateral orchiectomi suppleret med kemoterapi er faderskabschancen nedsat.
4. Faderskabschancen hos gruppen med stråbehandling vurderes usikker

Det skal bemærkes at den nedsatte fertilitet hos TC-patienter skyldes både nedsat spermatogenese før diagnostik og den behandlingsrelaterede nedsatte spermatogenese.

Desværre har det ikke været muligt at registrere om der ved ART er gjort brug af cryopræsserveret sæd. Studiet giver derfor ikke specifikke tal for graviditetsrater med cryopræsserveret sæd. Efter behandling med cryopræsserveret sæd grundet cancerdiagnose er graviditets- og fødselsrater afhængige af typen af fertilitetsbehandling. Samtidig må man antage, at de patienter med sværest nedsat sædkvalitet tilbydes ICSI, mens IUI kun tilbydes til par, hvor manden har noget bedre sædkvalitet.

Graviditetsrate/ fødselsrate:

ICSI: 34%/ 23%

IVF: 24%/18%

IUI : 9%/ 5%

Man skal være opmærksom på de enkelte studiers alder, idet man ser bedre resultater jo nyere publikationerne er. *Derudover påpeger studiet at der er varierende graviditetsrater afhængigt af kontinent.*

PICO A4

Når man skal vurdere effekten af kemoterapi på aneuploidi-raten i spermatozoer (og hos afkom), er det vigtigt at skelne mellem aneuploidi pga. grundsygdommen og aneuploidi pga. behandling af sygdommen. Af praktiske årsager råder man sjældent over spermatozoer indsamlet før sygdommens indtræden, men det er vigtigt at evaluere aneuploidi-rater i spermatozoer, der er indsamlet både før kemoterapi og til fixerede tidspunkter efter kemoterapi, så man kan vurdere effekten af behandling på fx aneuploidi-raten. En sammenligning af aneuploidi-raten før kemoterapi med aneuploidi-raten i baggrundsbefolkningen kan give et fingerpraj om en association mellem specifikke sygdomme og aneuploidi-rater i spermatozoer.

I et nyt systematisk review har man evalueret effekten af kemoterapi på aneuploidi i spermatozoer hos mænd med testiscancer eller Hodgkin's lymfom (Nissi et al., 2024). Ved evaluering af en heterogen gruppe af i alt 7 case-control og longitudinelle, prospektive studier blev der fundet non-signifikante tendenser til øgede aneuploidi-rater både forud for kemoterapi (pga. sygdommen i sig selv?) samt umiddelbart efter behandlingen. Der observeredes en forhøjet aneuploidi-rate i spermatozoerne efter 12 og 24 måneder med cisplatin-behandling (Ghafouri-Fard et al., 2021). Omvendt syntes aneuploidi-raterne gradvist at falde 6-24 måneder efter kemoterapi (Nissi et al., 2024).

I et dansk-svensk kohorte-studie har man undersøgt risikoen for medfødte anomalier hos børn med fædre med en kræft-diagnose (Ståhl et al., 2011). Man identificerede alle enkeltfødte børn, der blev født levende i Danmark mellem 1994 og 2004 samt i Sverige

mellem år 1994–2005 ($n = 1\,777\,765$). Totalt var det 8670 børn med en far med en kræftanamnese, og ud af disse var 508 undfanget ved hjælp af assisteret reproduktion (ART). Afkom af mandlige kræftoverlevende udviste en øget risiko for større medfødte anomalier sammenlignet med afkom af fædre uden en kræftanamnese. Sammenhængen mellem fædres kræftdiagnose og risikoen for medfødte abnormiteter blev ikke påvirket af undfangelsesmetoden, uanset om denne var naturlig eller baseret ART (Ståhl et al., 2011).

Det er afgjort behov for større veldefinerede undersøgelser for at kunne besvare dette PICO-spørgsmål sufficent. Der skal meget store patient-materialer til for at kunne evaluere i hvor høj grad en øget aneuploidi-rate i spermatozoerne påvirker graviditets-raterne eller frekvensen af abnormiteter hos afkommet (børn).

PICO B1

For pubertale og post-pubertale unge og voksne mænd i Danmark, har efterspørgslen af fertilitetsbevaring været stigende de sidste mange år. Dette skyldes bl.a. at flere cancerpatienter overlever deres sygdom, hvilket har medført en betydelig øgning i antallet af langtidsoverlevende. Nedsat fertilitet er en af de hyppigt forekommende senfølger efter cytotoxisk behandling i barndommen med en forekomst på omkring 30% (Chow EJ et al Lancet Oncol 2016).

Man har endnu ikke opnået sædcelle-dannelse i præpubertalt, humant testisvæv, som har været cryopreserveret. Indikation for cryopreservering af præpubertalt testisvæv baserer sig derfor udelukkende på, at man ønsker at bevare fertiliteten hos drenge, som udsættes for toksisk effekt af kemo- og stråleterapi, eller hos drenge, hvor man har en begrundet mistanke om, at fertiliteten vil falde senere i livet, sammenholdt med begrundede forhåbninger om, at man inden for en overskuelig fremtid kan udvikle modne spermatozoer fra det cryopreserverede testisvæv (Wang et al., 2022). Patienterne og disses forældre informeres om og giver deres informerede samtykke til, at behandlingen er eksperimentel.

PICO B2

Af de mere end 3000 drenge, som indtil videre har fået cryopreserveret præ- og peripubertalt testisvæv, har $\frac{1}{4}$ haft en benign hæmatologisk lidelse, $\frac{1}{4}$ en malign hæmatologisk lidelse, mens andre har haft tumores i CNS eller andet steds (Duffin et al., 2024). Mindre grupper har haft Klinefelter syndrom, kryptorkisme, været transkønnede eller haft disorders of sex development (DSD)(Mamsen et al., 2024). Man kender af gode grunde endnu ikke succesraterne for de enkelte patientgrupper, men det vil til dels kunne afhænge af alder (på nedfrysningstidspunktet), vævstransport, medier, størrelsen af testisvævs-fragmenter og nedfrysningsprocedurer.

Ligesom der har været mistanke om kontaminering af ovarievæv ved malign hæmatologisk sygdom (Gjeterud et al., 2021), har en tilsvarende bekymring været rejst for drenge, idet man har påvist holdepunkter for hæmatologisk spredning af maligne celler til testis (hos 37% med leukæmi eller lymfom)(Kourta et al., 2023). Ydermere har man i en kasuistisk meddelelse fundet metastasering fra neuroblastom til normalt testisvæv hos en dreng, som har fået cryopreserveret præpubertalt testisvæv (Ahler et al., 2023). Selvom der ikke er fundet cancer relaps i autotransplanteret ovarievæv (Gellert et al., 2018), bør denne bekymring yderligere belyses ved eksperimentelt arbejde. Men det er vigtigt at være opmærksom på problematikken, og at væv fra patienter med malign sygdom undersøges for kontaminering med maligne celler før evt. auto-transplantation af cryopreserveret, præpubertalt testisvæv.

Vedrørende indikationen for kryopreservation af præpubertalt testisvæv for drenge der skal have gonadotoksisk behandling for maligne sygdomme eller før knoglemarvstransplantation pga. andre sygdomme henvises til DAPHO rekommandationer for fertilitetsbevarende foranstaltninger hos drenge og unge mænd før behandling med højdosis kemoterapi og/eller bestråling.

Ifølge den nye ESHRE anbefaling (Mitchel *et al.*, 2025) tilbydes kryopreservering af testisvæv kun til drenge, som skal gennemgå gonadotoksisk behandling, men i Østdanmark kryopreserveres også testisvæv fra udvalgte drenge med kryptorchisme (Mamsen *et al.*, 2024). Indikationen for kryopreservation af testisvæv for drenge med kryptorchisme afhænger af en individuel vurdering af risikoen for senere azoospermi (Henriksen *et al.*, 2025). Vurdering af flere af følgende parametre bør indgå: uni/bilateral patologi, hereditære forhold, hormonparametre, testis histologi og associeret morbiditet. Generelt vil drenge med bilateral kryptorchisme og moderat samt svært nedsat nedsat germinalcelle antal i testis-biopsier (< 0.3 germinalceller per tværskårne tubuli) have høj risiko for azoospermi selv efter tidlig succesfuld orchidopexi.

Vedrørende disorders of sex development (DSD) bør indikationen for kryopreservation af testisvæv for enkelte patienter diskuteres ved de nationale MDT konferencer.

DAPHO-anbefalinger for testes biopsier for drenge der ikke kan deponere sæd baseret på de mest opdaterede internationale rekommandationer fra PanCareLIFE consortium og The international Late Effects of Childhood Cancer Guideline Harmonization Group:

Høj risiko for infertilitet	Lav risiko for infertilitet:
Testikulær bestråling > 8 Gy	Testikulær bestråling < 8 Gy
Cyklofosfamid ækvivalent dosis > 4000 mg/m ²	Cyklofosfamid ækvivalent dosis < 4000 mg/m ²
Cisplatin > 500 mg/m ²	Cisplatin < 500 mg/m ²
Carboplatin > 5000 mg/m ²	Cyklofosfamid ækvivalent dosis < 4000 mg/m ²
Bilateral orchidektomi	Unilateral orchidektomi

PICO B3

Testikelbiopsi udføres på gonadens forside, fra den kraniale pol og distalt sagittalt for at undgå skader på testikelarterien. Når testiklerne sidder i pungen, anbefales det, at kirurgen starter med at lave et tværgående eller sagittalt (i raphe) snit i skrotum på 2-3 cm. Derefter åbnes tunica vaginalis, og testiklens laterale overflade blotlægges. Tunica albuginea skæres 5-10 mm i længden, og testiklerne klemmes let, så pulpa stikker ud af tunica albuginea. Testikelvæv skæres efterfølgende ud med en saks eller spids kniv for at opnå en biopsi. Tunica albuginea lukkes over defekten og såret lukkes lagvist. Da ændringer i strukturen af tunica albuginea har vist sig at være ekstremt værdifulde i vurderingen af gonade-udvikling, testikeldysgenese og andre læsioner, bør et fragment af dette væv inkluderes i prøven. Størrelsen og antallet af nødvendige biopsiprøver debatteres stadig. I 16 centre, der har kryopræservede væv fra 3118 patienter, findes følgende data: Alle centre udførte unilaterale biopsier, mens 6/16 undertiden udførte bilaterale biopsier. Ved kryopræserving af væv bevarede 9/16 centre fragmenter med en størrelse på <5 mm³, mens resten præserverede fragmenter med en størrelse på 6-20 mm³.

Biopsien størrelse vil være afhængig af drengens alder (testes størrelse) og diagnose. Hvis den gonadotoksiske behandling medfører azoospermi kan det være hensigtsmæssigt at

kryopræsere relativt mere væv end hvis der er tale om benigne tilstande som eksempelvis kryptorkisme, hvor et potentiale for oligozoospermi ikke kan udelukkes. Det er usikkert, hvornår testisbiopsien mest hensigtsmæssigt tages, men i praksis kan man først gøre det, når indikationen er stillet, og herefter har man sædvanligvis ret kort tid til at udtage vævet, før patienten skal have kemo- eller stråleterapi. Der er endnu ikke data for hvor stor en biopsi, der vil være nødvendig for en senere mulig udnyttelse til fertilitetsbehandling.

PICO B4

Testisvæv kan nedfryses ved anvendelse af en af to metoder, den såkaldte ”slow-freezing” eller vitrifications metode. Begge arbejdsgange anvender det samme princip, nemlig at iskrystaldannelse intracellulært undgås ved dels at små organiske molekyler (såsom Ethyleneglycol, DMSO eller glycerol) forhindrer vandmolekylerne i at danne iskrystaller og dels ved at vandaktiviteten extracellulært reduceres ved at benytte molekyler som binder extracellulær vand uden at stoffet penetrerer cellemembraner (såsom sucrose).

Metoderne adskiller sig ved, hvordan koncentrationen af disse cryoprotectanter bliver tilstrækkelig høje til at forhindre iskrystaldannelse. Ved slow-freezing metoden forøges koncentrationen af cryoprotectant intracellulært via en dynamisk proces, hvorved vandet langsom trækkes ud af cellerne samtidig med at cryoprotectanten opkoncentreres inde i cellen. Ved vitrification opnås i modsætning hertil tilstrækkelig høje koncentrationer af cryoprotectant inden selve nedfrysningen, således at en tilstrækkelig koncentration af cryoprotectant til at undgå iskrystaldannelse allerede er opnået før nedfrysningen. Man kan derfor med succes anvende begge metoder og der er publicerede protokoller. Ifølge ESHRE’s guideline (Mitchel *et al.*, 2025) er der ikke evidens for, at vitrification er bedre end slow-freeze eller omvendt. De fleste centre anvender DMSO som cryoprotectant, men enkelte benytter EG. I Danmark på Rigshospitalet anvendes en slow-freezing metode der er blevet evalueret med henblik på at demonstrere overlevende væv og celler efter optøning (Kvist *et al.*, 2006). I denne publikation blev det demonstreret at frosset/optøet testisvæv fra drenge producerede Leydig celle specifikke hormoner såsom testosteron, Sertoli celle specifikke hormoner såsom inhibin-B og AMH i koncentrationer der ikke var signifikant forskellige fra friske testikler, ligesom der immunhistokemisk kunne verificeres kønsceller efter en dyrkningsperiode på 2 uger. Tillige er der sidenhen foretaget en række forskningsforsøg med frosset /tøet væv, der har vist god overlevelse af bl.a. kønscellerne.

Vævet dissekeres ud i små stykker væv, som maksimalt har en størrelse på cirka 2-3 mm på hver side for at sikre en ensartet ækvilibrering af vævsstykket med cryoprotectanterne indenfor cirka 20 min. Såfremt det er vævsstykker fra små drenge, vil stykkerne ofte være mindre, hvilket ikke ændrer proceduren. Vævsstykkerne placeres efter ækvilibrering med et stykke i hver ampul og fryses separat, således, at det er muligt at optø og behandle dem individuelt, da der endnu ikke er udviklet en metode til at udnytte vævet klinisk.

Taksigelser:

Overlæge Niels Jørgensen, Afd. for Vækst og Reproduktion, RH, og Anette Gabielsen, Fertilitetsklinikken, Regionshospitalet i Horsens takkes for at stille data til rådighed vedr. cryopræserving af ejakulater.

References

Ahler A, Gook D, Moussaoui D, Archer J, Zacharin M, D'Arcy CE, Sullivan M, Jayasinghe Y: *Metastatic neuroblastoma in fertility preservation biopsy of clinically normal testis: a case report*. *Reprod Biomed Online* 2023; 47: 103232.

Bahadur G, Ozturk O, Muneer A, Wafa R, Ashraf A, Jaman N, Patel S, Oyede AW, Ralph DJ. *Semen quality before and after gonadotoxic treatment*. *Hum Reprod* 2005; 20: 774-81.

Bandak M, Jensen A, Dehlendorff C, Lauritsen J, Kreiberg M, Wagner T, Rosenvilde J, Daugaard G: *Paternity after treatment for testicular germ cell cancer: A Danish nationwide population-based cohort study*. *J Natl Cancer Inst* 2022; 114: 149-55.

Chow EJ, Stratton KL, Leisenring WM, Oeffinger KC, Sklar CA, Donaldson SS, Ginsberg JP, Kenney LB, Levine JM, Ribison LL, Shnorhavorian M, Stovall M, Armstrong GT, Green DM. *Pregnancy after chemotherapy in male and female survivors of childhood cancer treated between 1970 and 1999: a report from the Childhood Cancer Survivor Study cohort*. *Lancet Oncol* 2016; 17: 567-76.

Di Santo, M, Tarozzi, N, Nadalini, M, Borini, A, Human Sperm Cryopreservation: Update on Techniques, Effect on DNA Integrity, and Implications for ART, *Advances in Urology*, 2012, 854837, 12 pages, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/854837>

Drechsel KCE, Pilon MCF, Stoutjesdijk F, Meivis S, Schoonmade LJ, Wallace WHB, van Dulme – den Broeder E, Beishuizen A, Kaspers GJL, Broer SL, Veening MA. *Reproductive ability in survivors of childhood, adolescent, and young adult Hodgkin lymphoma: a review*. *Hum Reprod Update* 2023, 29: 486-517.

Duffin K, Neuhaus N, Andersen CY, Barraud-Lange V, Braye A, Equizabal C *et al.*: *A 20-year overview of fertility preservation in boys: new insights gained through a comprehensive international survey*. *Hum Reprod Open* 2024: hoae010.

Faure A, Bouty A, O'Brien M, Thorup J, Hutson J, Heloury Y: [Testicular biopsy in prepubertal boys: a worthwhile minor surgical procedure?](#) *Nat Rev Urol* 2016; 13:141-50.

Fedder J, Naur S, Engvad B, Ditzel N, Mamsen LS, Andersen CY: *Transplantation of immature pig testis tissue to immunodeficient rats*. Abstract presented orally at a session: "Best abstract" at International Society of Andrology & American Society of Andrology joint congress, Washington, March 29-April 1, 2025.

Fedder J, Skakkebaek A, Jensen CFS, Gravholt CH: *Fertilitetsbehandling af mænd med Klinefelter syndrom*. *Ugeskr. Læger* 2025; 187: 1149-53.

Ferrari S, Paffoni A, Filippi F, Busnelli A, Vegetti W, Somigliana E. *Sperm cryopreservation and reproductive outcome in male cancer patients: a systematic review*. *Reprod Biomed Online* 2016; 33: 29-38.

Gellert SE, Pors SE, Kristensen SG, Bay-Björn AM, Ernst E, Andersen CY: *Transplantation of frozen-thawed ovarian tissue: an update on worldwide activity published in peer-reviewed papers and on the Danish cohort*. *J Assist Reprod Genet* 2018; 35: 561-70.

Gjeterud J, Kristensen SG, Fedder J: *Indikationer for kryopreservering og autotransplantasjon av eggstokkev.* Tidsskriftet for Den norske legeforening 2021; 141: 2021-5.

Goosens E, Jahnukainen K, Mitchell R, van Pelt A, Pennings G, Rives N, Poels J, Wyns C, Lane S, Rodriguez-Walberg K et al.: *Fertility preservation in boys: recent developments and new insights.* Hum Reprod Open 2020; 2020: 1-18.

Henriksen AL, Poulsen I-M, Sørensen F, Fedder J: *Paternity after treatment of cryptorchidism: A systematic review.* J. Clin. Med.; section: Reproductive Medicine & Andrology 2025; 14: article 4768 (25 pages).

Jensen CFS, Mamsen LS, Wang D, Fode M, Giwercman A, Jørgensen N, Ohl D, Fedder J, Hoffmann ER, Andersen CY, Sønksen J: *Results from the first autologous grafting of adult human testis tissue: a case report.* Hum Reprod 2024; 39: 303-9.

Kjartansdóttir R, Gabrielsen A, Reda A, Söder O, Bergström-Tengzelius R, Andersen CY, Hovatta O, Stukenborg JB, Fedder J: *Differentiation of stem cells upon deprivation of exogenous FGF2: a general approach to study spontaneous differentiation of hESC in vitro.* Syst Biol Reprod Med 2012; 58: 330-8.

Kourta D, Kanbar M, Amorim CA, Wyns C: *Cancer cell contamination and decontamination methods for ovaries and testes: special focus on prepubertal gonads with a view to safe fertility restoration.* Hum Reprod 2023; 38: 780-98.

Kvist K, Thorup J, Byskov AG, Høyer PE, Møllgård K, Yding Andersen C: *Cryopreservation of intact testis tissue from boys with cryptorchidism.* Hum Reprod. 2006, 21, 484-91.

Li Q, Lan Q-Y, Zhu W-B, Fan L-Q, Huang C: *Fertility preservation in adult male patients with cancer: a systematic review and meta-analysis.* Hum Reprod Open 2024: hoae006.

Mamsen LS, Hildorf S, Ntemou E, Wang D, Cortes D, Fedder J, Thorup J, Andersen CY. *Testis tissue cryopreservation may be considered in boys with cryptorchidism.* Asian J Androl 2024; 26: 610-6.

Michelsen SW, Dahl C, Hasle H, Henriksen LT, Callesen M, Sørensen K: *DAPHO rekommandationer for fertilitetsbevarende foranstaltninger hos drenge og unge mænd før behandling med højdosis kemoterapi og/eller bestråling.*

Mitchel RT, Eguizabal C, Goosens E, Gryntberg M, Jahnukainen K, Le Clef N, Mulder CL, Neuhaus N, Rimmer MP, Stuckenborg J-B, van de Wetering MD, van Pelt AMM, Wyns C: *Good practice recommendations on fertility preservation in child and adolescent males receiving gonadotoxic therapies.* (ESHRE guideline 2025)

Nissi J, Kalam L, Catalini L, Fedder J: *Effects of chemotherapy on aneuploidy rates in sperm from male patients with testicular cancer or Hodgkin's lymphoma – A systematic review.* J Clin Med 2024; 13: 3650.

O'Neill HC, Nikoloska M, Ho H, Doshi A, Maalouf W. Improved cryopreservation of spermatozoa using vitrification: comparison of cryoprotectants and a novel device for long-term storage. *J Assist Reprod Genet.* 2019 Aug;36(8):1713-1720. <https://doi.org/10.1007/s10815-019-01505-x>

Pallotti F, Pelloni M, Faja F, Di Chiano S, Di Rocca A, Lenzi A, Lombardo F, Paoli D. *Semen quality in non-Hodgkin lymphoma survivors: a monocentric retrospective study.* *Hum Reprod* 2021; 36: 16-25.

Sadri-Ardekani H, McLean TW, Kogan S, Sirintrapun J, Crowell K, et al: *Experimental testicular tissue banking to generate spermatogenesis in the future: a multidisciplinary team approach.* *Methods* 2016; 99: 120–7.

Slabbert M, du Plessis SS, Huyser C. Large volume cryoprotectant-free vitrification: an alternative to conventional cryopreservation for human spermatozoa. *Andrologia.* 2015 Jun;47(5):594-9. <https://doi.org/10.1111/and.12307>.

Ståhl O, Boyd HA, Giwercman A, Lindholm M, Jensen A, Kjær SK, Anderson H, Cavallin-Ståhl E, Rylander L. *Risk of birth abnormalities in the offspring of men with a history of cancer: a cohort study using Danish and Swedish national registries.* *J Natl Cancer Inst* 2011; 103: 398-406.

Van Casteren NJ, Dohle GR, Romijn JC, de Muinck Keizer-Schrama SMPF, Weber RFA, van den Henvel-Eibrink MM. *Semen cryopreservation in pubertal boys before gonadotoxic treatment and the role of endocrinologic evaluation in predicting sperm yield.* *Fertil Steril* 2008; 90: 1119-25.

Vomstein K, Reiser E, Pinggera GM, Toerzsoek P, Deininger S, Kriesche T, Biasio W, Lusuardi L, Toth B. *Sperm banking before gonadotoxic treatment: is it worth the effort?* *Asian J Androl* 2021; 23: 490-4.

Wang D, Hildorf S, Ntemou E, Dong L, Pors SE, Mamsen LS, Fedder J, Hoffmann ER, Cortes D, Thorup J, Andersen CY: Characterization and survival of human immature testicular cells after direct xenotransplantation. *Frontiers Endocrinol* 2022; 13: 853482.

Znaor A, Lortet-Tieulent J, Jemal A, Bray F. International variations and trends in testicular cancer incidence and mortality. *Eur Urol* 2014; 65: 1095-106.