

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ СПЕРМАТОЗОИДОВ ПРИ КРИОКОНСЕРВАЦИИ, ПОЛУЧЕННЫХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДОВ MESA И TESE; МИКРОХИРУРГИЧЕСКАЯ ЭПИДИДИМАЛЬНАЯ АСПИРАЦИЯ СПЕРМАТОЗОИДОВ И ПОЛУЧЕНИЕ СПЕРМАТОЗОИДОВ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ОТКРЫТОЙ БИОПСИИ ЯИЧКА У БОЛЬНЫХ С АЗОСПЕРМИЕЙ

**А.К. Абаралиев¹, Ж.К. Райымбеков², Н.Ж. Садырбеков¹,
Г.К. Райымбекова³, Г.С. Чернецова⁴**

¹ Республиканский научный центр урологии при НГ МЗ КР,

² Научно-производственный комплекс Эльдос,

³ Кыргызская Государственная медицинская академия им. И.К. Ахунбаева,

⁴ Кыргызско-Российский Славянский университет им. Б.Н. Ельцина,
г. Бишкек, Кыргызская Республика

Резюме: В данной статье проделаны исследования тестикулярных сперматозоидов полученных путем микрохирургических процедур MESA и TESE у больных мужчин с азооспермией. Изучены морфофункциональные характеристики спермиев после криоконсервации для использования в программах вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ).

Ключевые слова: MESA, TESE, азооспермия, криоконсервация сперматозоидов.

СПЕРМАТОЗОИДДЕРДИН MESA ЖАНА TESE ЫКМАЛАРЫН КОЛДОНУУ МЕНЕН АЛЫНГАН КРИОКОНСЕРВАЦИАЛАНГАНДАГЫ МОРФОФУНКЦИОНАЛДЫК КӨРГӨЗМӨЛӨРҮ; СПЕРМАТОЗОИДДЕРДИ ЭПИДИДИМАЛДЫК МИКРОХИРУРГИЯЛЫК АСПИРАЦИЯСЫ ЖАНА БЕЙТАПТАРДЫН АЗОСПЕРМИЯ БОЛГОНДОГУ ЖУМУРТКАДАН АЧЫК БИОПСИЯСЫН ӨТКӨРҮҮ МЕНЕН СПЕРМАТОЗОИДДЕРДИН АЛЫНУУСУ

**А.К. Абаралиев¹, Ж.К. Райымбеков², Н.Ж. Садырбеков¹,
Г.К. Райымбекова³, Г.С. Чернецова⁴**

¹ Кыргыз Республикасынын Саламаттык сактоо министрлигине караштуу Улуттук госпиталдын, урологиялык илимий борбору,

² Илимий-изилдөө жана өндүрүштүк комплекси Eldos,

³ И.К. Ахунбаев атындагы Кыргыз мамлекеттик медициналык академиясы,

⁴ Б.Н. Ельцин атындагы Кыргыз-Россия Славян университети,
Бишкек ш., Кыргыз Республикасы

Корутунду: Бул макалада эркек бейтаптардын азооспермиясынын MESA жана TESE микрохирургиялык ыкмалары менен тестикуладагы сперматозоиддердин изилдөөсү жүргүзүлгөн. Жардамчы репродуктуу технологиясынын программаларын колдонуу үчүн криоконсервациадан кийинки спермиалардын морфофункционалдык мүнөздөмөлөрүн изилдөө.

Негизги сөздөр: MESE, TESE, азооспермия, сперматозоиддердин криоконсервациясы.

MORFOFUNCTIONAL INDEXES OF SPERMATOZOONS AT A CRYOPRESERVATION RECEIVED WITH USE OF THE MESA AND TESE METHODS; MICROSURGICAL EPIDIDYMAL ASPIRATION OF SPERMATOZOONS AND CRYORECEIVING SPERMATOZOON'S WHEN CARRYING OUT AN OPEN BIOPSY OF A TESTICLE AT PATIENTS WITH AN AZOSPERMS

**A.K. Abaraliev¹, Zh.K. Raiymbekov², N.Zh. Sadyrbekov¹,
G.K. Raiymbekova³, G.C. Chernetsova⁴**

¹ Republican scientific center of urology at the National Hospital MH KR,

² Scientific-industrial complex Eldos,

³ KSMA named after I.K. Akhunbaev,

⁴ KRSU named after B.N. Yeltsin
Bishkek, the Kyrgyz Republic

Resume: In this article researches of testicular spermatozoons of the microsurgical MESA and TESE procedures received in the path at sick men are done with an azospermi. Morfofunctional characteristics spermatozoons after cryofreezing for use in programs of the IVF.

Keywords: MESA, TESE, azoosperms, cryoreceiving spermatozoon's.

Введение

В настоящее время мужской фактор в бесплодном браке занимает 40% [1,2]. В данное время для лечения тяжелых форм бесплодия широко применяются такие методики: MESA (микрочирургическая эпидидимальная аспирация сперматозоидов); PESA (перкутанная эпидидимальная аспирация сперматозоидов); MESE (получение сперматозоидов при проведении открытой биопсии придатка яичка) и TESE (получение сперматозоидов при проведении открытой биопсии яичка) [3,4,5].

Сперматозоиды, извлеченные путем интраоперационной биопсии, имеют после замораживания-отогрева низкое качество. Описаны лишь единичные случаи наступления беременности после программ ВРТ спермиями, полученными при обструктивной и необструктивной азооспермии [6,7,8].

Определение процессов, ведущих к криорезистентности и использование наиболее рациональной технологии обработки спермы, в процессе которой выделяются наиболее полноценные и функционально активные сперматозоиды имеет практическое значение в лечении мужского фактора в бесплодном браке, а также необходимое условие полноценных программ вспомогательной репродуктивной технологии (ВРТ) [9].

Цель исследования – изучить морфофункциональные показатели спермиев после криоконсервации, полученных путем MESA и TESE.

Материал и методы исследования

Для исследования использовали 13 образцов сперматозоидов мужчин детородного возраста с обструктивной и необструктивной формами азооспермии, полученных путем MESA и TESE. При криоконсервации использовали крипротектор Cryo Sperm (Medi Cult, Дания). Замораживание проводили в стандартном режиме: инкубировали над парами азота в течение 30 минут, затем погружение в жидкий азот. Размораживали в течение 10 мин на водяной бане при температуре 34-37°C. Обработку эякулята проводили средами Sperm Preparation Medium и Supra Sperm System (Medi Cult, Дания). Для обработки эякулята использовались метод флотации и центрифугирования в градиенте плотности. Активность трофобластического b-1-гликопротеина определяли путем постановки иммуноферментной реакции. Определение активности акрозина проводили по методу W.B. Schill (W.B. Schill., 1986). Одним из составляющих семенной жидкости является содержание в ней трофобластического b-1-глико-

протеина, отрицательно влияющий на активность акрозина. Акрозин является одним из ключевых акросомальных ферментов участвующих в оплодотворении яйцеклетки. Установлена, высокая корреляционная связь с активностью акрозина и частотой оплодотворения (EngelW.etal, 1996). Функциональное состояние плазматических мембран оценивалось посредством способности мембран реагировать на гипотонические и гипертонические условия окружающей среды. Для этого проводили упрощенный HOS test (водяной тест) и тест с растворами хлорида натрия с различной осмолярностью.

Тактика проведения MESA и TESE. Проводили открытую биопсию яичка с последующей экстракцией сперматозоидов (TESE) и аспирацию содержимого придатка яичка (MESA). Процедуры проводили под локальной анестезией. После обработки операционного поля на латеральной или медиальной бессосудистой повехности мошонки проводили разрез послыйный разрез, а затем иссечение тестикулярной паренхимы. Аспирацию проводили с помощью шприца с иглой 19G.

Результаты исследования

По результатам исследования нативный исходный уровень общей подвижности сперматозоидов составлял 40-59%, то после криоконсервации в течение одного часа после разморозки подвижность сохранялась на уровне 19-52% соответственно (то есть 47-88% от исходных 100%). Таким образом, выживаемость клеток прямо зависела от исходного уровня подвижности. После разморозки снижалась примерно в 2 раза.

При гипоосмотических условиях исследованиях (150 мосм/кг раствора хлорида натрия) морфологические изменения проявляются в характерных набуханиях (swelling) хвостовой части сперматозоидов, что характеризует полноценность плазматической мембраны хвостовой части сперматозоида. В гиперосмотических условиях (510 мосм/кг) осмотическое напряжение испытывает головка сперматозоида, которая выражается в видимом набухании, это свидетельствует о полноценности мембраны и цитоплазмометаболической активности головки.

Содержание трофобластического b-1-гликопротеина в семенной жидкости колебалось в пределах 0-21,9 нг/мл. При содержании трофобластического b-1-гликопротеина 0-7 нг/мл морфологические особенности спермиев существенно не были изменены (патологические формы спермиев составляли 16%). Было установлено, что наибольшие показатели содержания трофобластического b-1-гликопротеина наблюдаются в

образцах нативной спермы, которая не была подвергнута предварительной обработке и составляют 11,4-21,9 нг/мл. В обработанной сперме показатели содержания трофобластического b-1-гликопротеина были ниже, они составляли 0-8 нг/мл. Активность свободного акрозина определяли по расщеплению субстрата ВАЕЕ. Общую активность акрозина определяли после разморозки спермы. Было установлено, что активность акрозина спермиев составляет от $2,6 \pm 0,7$ мкМЕ/ 10^6 до $5,41 \pm 0,8$ мкМЕ/ 10^6 . При этом в образцах нативной спермы показатели активности акрозина были самыми низкими, а показатели в обработанных образцах были высокими. Проферментная активность акрозина увеличивается по мере снижения трофобластического b-1-гликопротеина в семенной плазме.

Выводы

Таким образом, в результате проведенного исследования после криоконсервации подвижность сохранялась на уровне 19-52% то есть 47-88% от исходных 100%. Была установлена определенная корреляция между активностью акрозина и содержанием трофобластического b-1-гликопротеина. В нативных образцах спермы содержание трофобластического b-1-гликопротеина максимальна, активность фермента акрозина минимальна. В обработанных образцах отмечается высокая активность акрозина, а содержание трофобластического b-1-гликопротеина ниже.

Исходя из вышеперечисленного сперматозоиды, полученные путем использования методов MESA и TESE у мужчин с обструктивной и необструктивной формами азооспермии имеют хорошую морфофункциональную сохранность после криозаморозки и могут быть использованы в программах вспомогательных репродуктивных технологий.

Литература:

1. Активность акрозина в криоконсервированных спермиях человека / [А.В. Дунаевская, Н.Н. Чуб, М.И. Крамар и др.] // Проблемы репродуктологии. - 2003. - № 1. - С. 65-70.
2. Моррелл, Дж.М. Приготовление человеческих сперматозоидов в программах ВРТ // Проблемы репродуктологии - 2002. - № 1. - С. 24-29.
3. Gahlay G.K., Spivastava N., Govino C.K. et al. Primate recombinant zona pellucida protein expressed in *Escherichia coli* bind to spermatozoa - *J Reprod Immunol* - 2002. - Vol. 53. - S 67-77.
4. Craft I., Bennet V., Nicholson N. Fertilising ability of testicular spermatozoa // *Lancet*. - 1993. - Vol.2, №342. - С. 864.
5. Hovatta O., Moilanen J., von Smitten K. et al. Testicular needle biopsy, open biopsy, epididymal aspiration and intracytoplasmic sperm injection in obstructive azoospermia // *J. Hum. Reprod.* - 1995. - Vol. 10, №10. - P. 2595-2599.
6. Schoysman R., Vanderzwalmen P., Nus M. Pregnancy after fertilization with human testicular spermatozoa // *Lancet*. - 1993. - Vol.13, №342. - С.1237.
7. Silber S., Nagy Z., Liu J. et al. The use of epididymal and testicular spermatozoa for intracytoplasmic sperm injection: the genetic implications for male infertility // *J. Hum. Reprod.* - 1995. - Vol. 10, №8. - P. 2031-2043.
8. Jin L., Jiang L.Y., Zhu G.J. et al. Comparison between the results of ICSI with fresh and with frozen-thawed sperm obtained by PESA to treat azoospermia // *Zhonghua Nan Ke Xue.* - 2006. - Vol. 12, №5. - P. 443-449.
9. Kalsi J., Thum MY., Muneer A. Analysis of the outcome of intracytoplasmic sperm injection using fresh or frozen sperm // *Br. J. Urol.* - 2011. - Vol. 107, №7. - P. 1124-1128.