

**КЫРГЫЗСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ
им И. К. АХУНБАЕВА**

**КЫРГЫЗСКО-РОССИЙСКИЙ СЛАВЯНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
им Б. Н. ЕЛЬЦИНА**

Диссертационный совет Д 14.23.678.

На правах рукописи
УДК 616.69-008.6

АБАРАЛИЕВ АКЫЛБЕК КУДАЙНАЗАРОВИЧ

**ОПТИМИЗАЦИЯ СОХРАНЕНИЯ И ВОССТАНОВЛЕНИЯ
РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ У МУЖЧИН С
ПРИМЕНЕНИЕМ КРИОКОНСЕРВИРОВАННОЙ
ТЕСТИКУЛЯРНОЙ ТКАНИ**

14.01.23 – урология

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Бишкек – 2024

Работа выполнена на кафедре урологии Кыргызско-Российского Славянского университета им. Б. Н. Ельцина.

Научный руководитель: **Чернецова Галина Степановна** доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой урологии Кыргызско-Российского Славянского университета им. Б.Н. Ельцина.

Официальные оппоненты **Неймарк Александр Израилевич** доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой урологии и андрологии с курсом дополнительного профессионального образования Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Алтайский Государственный медицинский университет», Российская Федерация г. Барнаул.

Абдыкалыков Мурадил Барктабасович кандидат медицинских наук, и.о. доцент кафедры урологии с курсом нефрологии и гемодиализа Кыргызского государственного медицинского института переподготовки и повышения квалификации им. С. Б. Даниярова.

Ведущая организация: Научный центр урологии им. Б. У. Джарбусынова (050060, Республика Казахстан, г. Алматы, ул. Басенова, 2)

Защита диссертации состоится «28» «марта» 2024 года. в 14.00 часов на заседании диссертационного совета Д 14.23.678 по защите диссертаций на соискание ученой степени доктора (кандидата) медицинских наук при Кыргызской государственной медицинской академии им. И. К. Ахунбаева и Кыргызско-Российском Славянском университете им. Б. Н. Ельцина по адресу: 720075, Кыргызская Республика, г. Бишкек, ул. Ахунбаева, 90а, Национальный центр фтизиатрии, 2 этаж, конференц-зал. Ссылка доступа к видеоконференции защиты диссертации <https://vc.vak.kg/b/d14-puu-lvw-wbv>.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеках Кыргызской государственной медицинской академии им. И. К. Ахунбаева (720020, г. Бишкек, ул. И. К. Ахунбаева, 92) и Кыргызско-Российского Славянского университета им. Б. Н. Ельцина (720000, Кыргызская Республика, г. Бишкек, ул. Киевская 44) и на сайте: <https://vak.kg/wp-content/uploads/2022/11/Dissertaciya-Akyl-okonchat.-finish-27.12.23-1.pdf>

Автореферат разослан «___» _____ 2024 г.

**Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат медицинских наук**



Оскон уулу Айбек

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ.

Актуальность темы диссертации. Мужское бесплодие в настоящее время занимает одно из приоритетных направлений в медицине. Репродуктивное здоровье всегда являлось предметом изучения и пристального внимания в научных и медицинских кругах, так как бесплодный брак затрагивает демографические и социальные аспекты нации, характеризующие экономический рост и развитие в целом [Замятнин С. А., Гончар И. С., Богданова М. А., 2021]. В данное время с увеличением факторов риска и повышением урологической и андрологической заболеваемости, вопросы восстановления и сохранения мужской фертильности остаются актуальными [Гамидов С. И., Даренко С. П., Овчинников Р. И., 2010; Дамулин И. В., Есилевский Ю. М., 2014]. Клиническая эффективность лечения необструктивной азооспермии в настоящее время ограничена неполным пониманием патогенеза [Cioppi F., Rosta V., Krausz C., 2019; Zhao L., Yao C., Xing X. et al., 2022; Tao Yong, 2022]. Азооспермия указывает на серьезные нарушения функционирования тканей яичек (гландулоцитов, сустентоцитов), которые приводят к угнетению процессов сперматогенеза [Esteves S. C., Agarwai A., 2013; Боровец С. Ю., Торопов В. А., Аль-Шукри С. Х., 2017]. Азооспермия имеет самые серьезные последствия для репродуктивного прогноза мужчины. Ее определяют, как полное отсутствие сперматозоидов в эякуляте [Wosnitzer M., Goldstein M., Hardy M. P., 2014; Бржозовский А. Г., Стародубцева Н. Л., Бугрова А. Е. и соавт., 2021].

Таким образом, вышеуказанные проблемы определяют актуальность работы, ее научную и практическую значимость, что является основанием для выполнения данного исследования.

Связь темы диссертации с крупными научными программами (проектами), основными научно-исследовательскими работами, проводимыми образовательными и научными учреждениями. Работа является инициативной.

Цель исследования. Оптимизировать результаты восстановления и сохранения репродуктивной функции у мужчин с азооспермией при использовании криоконсервированной тестикулярной ткани.

Задачи исследования.

1. Изучить морфологические особенности клеток тестикулярной ткани в условиях криоаморозки;
2. Обосновать предложенные методы сохранения и восстановления репродуктивного потенциала у мужчин с азооспермией;

3. Разработать алгоритм диагностики и поэтапного ведения пациентов с мужским бесплодием с обоснованием рекомендаций для процедуры вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ);
4. Оптимизировать метод хирургической коррекции и восстановления сперматогенной и андрогенной функций у экспериментальных животных с моделированной азооспермией, путем применения криоконсервированной аллогенной и аутологичной фракции клеток герминогенного эпителия.

Научная новизна полученных результатов.

1. Разработан и внедрен алгоритм поэтапного ведения, диагностики и рекомендаций к коррекции азооспермии у мужчин с целью сохранения и восстановления репродуктивной функции;
2. Внедрен способ выделения и сохранения клеток герминогенного эпителия яичек у мужчин с азооспермией с применением комбинированных криопротекторов на основе глицерина, 5% диметилсульфоксида с добавлением 3% реополиглюкина к объему замораживаемого материала для уменьшения токсичности криоконсервантов на структуру сперматозоидов и клеток герминогенного эпителия;
3. Разработан метод хирургической коррекции андрогенной и сперматогенной функции у экспериментальных животных (половозрелых кроликов-самцов) методом подсадки криоконсервированной фракции герминогенных клеток и спермальных стволовых клеток яичка.

Практическая значимость полученных результатов.

Оптимизированы малоинвазивные методы тестикулярной биопсии и микрохирургической эпидимальной экстракции половых клеток у мужчин с азооспермией способствующие достоверному диагностированию характера нарушений сперматогенеза, и обоснованию основных путей сохранения и восстановления мужской фертильности. Разработанный протокол выделения тестикулярных сперматозоидов и клеток герминогенного эпителия с применением методов супровитальных исследований, а также их сохранение методом криозаморозки с применением комбинированных криопротекторов на основе глицерина, диметилсульфооксида и реополиглюкина. Разработан алгоритм ведения пациентов с мужским бесплодием, определяющий оптимальное диагностирование и тактики лечения с целью сохранения и восстановления репродуктивных функций. На основе полученных результатов исследования определены оптимальные методы сохранения и восстановления фертильности у мужчин с азооспермией.

Полученные теоретические и практические результаты исследования внедрены в клиническую практику в структурные урологические отделения Республиканского научного центра урологии Национального госпиталя при

Министерстве Здравоохранения Кыргызской Республики (акт внедрения №30 от 02.08.2022 г).

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

1. Криорезистентные показатели сперматозоидов и тестикулярной ткани, полученных путем биопсии, дают основание для широкого применения данного метода в лечении нарушения мужской фертильности. Результаты исследования показали, что тестикулярные сперматозоиды морфологически целостны и проявляют акросомальную активность, а при криоконсервации претерпевают минимальные изменения и обладают хорошей сохранностью;

2. Клетки герминогенного эпителия в условиях криоконсервации сохраняют пролиферативную и стероидогенную функции. После процедуры разморозки и инкубирования, интерстициальные клетки тестисов проявляют выраженную генеративную активность и в совокупности с детерминированными спермальными клетками дают хороший ответ на стимуляцию хорионическим гонадотропином;

3. Криоконсервация сперматозоидов, полученных путем биопсии (TESE), повышает шансы зачатия ребенка у бесплодных супружеских пар и может быть использованы в программах вспомогательных репродуктивных технологий;

4. Криозаморозка клеток герминогенного эпителия яичек является оптимальным методом сохранения и восстановления репродуктивной функции у мужчин с азооспермией.

Личный вклад соискателя. Автор непосредственно участвовал во всех этапах диссертационного исследования. Информационно-аналитический поиск медицинской литературы, исследовательская работа с клиническим материалом (проведение клинко-диагностического обследования), участие в диагностике и оперативном получении тестикулярного биоптата и микрохирургической аспирации эпидидимального пунктата у мужчин с азооспермией, аналитическая и статистическая обработка материала, а также в проведение экспериментальных исследований с моделированием азооспермии у животных проведены лично автором работы.

Апробация результатов исследования. Основные положения диссертации доложены и обсуждены на: VI Конгрессе урологов Сибири с международным участием (Российская Федерация, г. Белокуриха, 4-5 мая, 2017 г); Международной урологической научно-практической конференции «Современные методы лечения и профилактика урологических заболеваний», посвященной памяти почётного профессора Евсюкова В. Н. (Кыргызская Республика, г. Бишкек, 25-26 март, 2022 г); Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы в урологии», посвященной

95-летию героя КР, академика НАН КР Мамакеева М. М. (Кыргызская Республика, г. Бишкек, 29-30 сентября, 2022 г).

Полнота отражения результатов диссертации в публикациях. По теме диссертации опубликовано 10 печатных работ, из которых 10 статей в научных изданиях, вошедших в Перечень рецензируемых научно периодических изданий, рекомендуемых Национальной аттестационной комиссии при Президенте Кыргызской Республике.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 134 страницах электронного набора шрифтом Times New Roman, Кириллица (размер 14, интервал 1,5). Работа состоит из введения, 4 глав, заключения, практических рекомендаций, списка литературы и приложения. Библиографический указатель включает 154 источников, в том числе 78 отечественных и стран ближнего зарубежья и 76 стран дальнего зарубежья. Диссертация иллюстрирована 13 таблицами, 40 рисунками.

Основное содержание работы

Во введении диссертации представлены актуальность исследования и обоснование необходимости его проведения, цель, задачи, научная новизна, практическая значимость работы и основные положения диссертации, выносимые на защиту

Глава I. Современные аспекты мужского бесплодия (обзор литературы).

1.1. Распространенность бесплодия у мужчин и изучение этиопатогенетических факторов возникновения азооспермии. Представлен обзор литературных данных современного состояния проблемы мужского бесплодия обусловленное обструктивным и необструктивным формами азооспермии. Освещено современное представление о значимых факторах развития азооспермии у мужчин. Отмечена необходимость проведения комплексных научно обоснованных мероприятий, направленных на восстановление и сохранение фертильности мужчин. Отражены основные проблемы восстановления и сохранения фертильности у мужчин с азооспермией. Детальное изучение проблемы мужского бесплодия определило необходимость научно обоснованных разработок механизмов по экстракции мужских половых клеток, и клеток герминогенного эпителия яичек, а также разработка оптимальных методов криозаморозки данных клеток.

1.2. Современные методы диагностики и коррекции мужского бесплодия. В данной подглаве представлен анализ современных методов диагностики и коррекции мужского бесплодия. По литературным данным совокупный спектр диагностических мероприятий включает в себя как лабораторные, так и инструментальные методы исследования. В целях

верификации диагноза рекомендуется биопсия яичка с гистологическим исследованием биоптата. До настоящего времени не существует четкого алгоритма тактики действий в диагностике и лечении мужского бесплодия, которые позволяют успешно восстановить и сохранить репродуктивную функцию мужчин с азооспермией.

1.3. Экспериментальные исследования при азооспермии. Для раскрытия всей полноты поставленных задач исследований, в данной подглаве представлены результаты экспериментальных исследований по коррекции бесплодия у мужчин. По литературным данным многих авторов в настоящее время особое внимание уделяется исследованиям в области клеточных технологий. Активно обсуждается вопросы выделения и применения сперматогониальных стволовых клеток. По данным многих источников имеются противоречивые данные о ксенотрансплантации сперматогониальных стволовых клеток, которое позволит повысить шансы восстановить сперматогенез у мужчин с азооспермией.

1.4. Преимущества криоконсервации тестикулярной ткани как эффективного способа сохранения генетического материала у репродуктивных мужчин. В данной подглаве представлены данные о методах криозаморозки биологических материалов с применением различных криопротекторов. На сегодняшний день недостаточно информации, касающейся эффективности методов криоконсервации самой тестикулярной ткани как способа сохранения генетического материала у мужчин.

Таким образом, бесплодие у мужчин, обусловленное секреторной и обструктивной формами азооспермии, требует расширения диагностических методик исследования, а также внедрения современных инновационных методов коррекции и сохранения фертильности.

Глава 2. Методология и материалы исследования.

2.1. Общая характеристика пациентов с азооспермией. Для клинко-статистического анализа изучены истории болезней 328 мужчин с бесплодием различного генеза. Исходя из цели и задач научного исследования из них отобраны 106 медицинских карт с клиническим заключением: «Бесплодие, секреторная форма. Азооспермия».

Объектом исследования явились лица мужского пола с верифицированным диагнозом «Бесплодие, секреторная форма, азооспермия», а также экспериментальные животные (половозрелые кролики-самцы) с моделированной азооспермией. *Предмет исследования* – выделение и изучение тестикулярных сперматозоидов и клеток герминогенного эпителия у мужчин с азооспермией с максимальным сохранением пролиферативных и генеративных потенциалов методом криоконсервации.

Исследуемые пациенты распределены на три клинические группы сравнения: - первая группа (контрольная) – 32 (30,2%) лиц с бесплодием,

получавших стандартные схемы лечения и проведением диагностической биопсии с учетом этиопатогенетических факторов; - вторая группа (основная «А») - 39 (36,8%) лиц с бесплодием, которым методом тестикулярной биопсии выделены сперматозоиды с последующем криоконсервацией; - третья группа (основная «В») – 35 (33,0%) лиц с бесплодием, у которых методом тестикулярной биопсии выделены клетки герминогенного эпителия с последующим их культивированием и криоконсервацией для экспериментального моделирования.

Согласно клинко-диагностической сопоставимости результатов исследования, нами разработан алгоритм поэтапного ведения пациентов с бесплодием.

2.2. Лабораторные методы исследования.

Комплексное (обязательное) лабораторное обследование включало в себя общие и биохимические исследования крови и мочи. Всем пациентам с азооспермией проведено исследование уrogenитальных инфекций методами полимеразной цепной реакции (ПЦР) и иммуноферментного анализа (ИФА). Основным цитоморфологическим анализом верификации клинического заключения явился анализ исследования эякулята – спермограмма.

2.3. Ультразвуковые и рентгенологические методы исследования мочеполовых органов у мужчин с азооспермией.

Метод ультразвукового исследования (УЗИ) мочеполовых органов у мужчин являлся основным скрининговым методом, позволяющим верифицировать основной диагноз, проводить дифференциальную диагностику патологий, в частности, предстательной железы и органов мошонки с оценкой гемодинамики. Генитографию выполняли методом пункционного введения 2-3 мл рентгенконтрастного вещества (омнипак, триомбраст) в семявыносящие протоки путем их пункции с последующей рентгенографией.

2.4. Хирургические методы получения сперматозоидов при азооспермии

Для экстракции сперматозоидов и тестикулярных клеток, а также проведению дифференциальной диагностики необструктивной и обструктивной форм азооспермии, мы использовали метод микрохирургической аспирации сперматозоидов из придатка яичка (MESA) и метод забора биопсийного материала непосредственно из ткани яичка (TESE). ***Ход операции TESE.*** После соответствующей обработки операционного поля под внутривенной анестезией проводилось рассечение кожного покрова по передней поверхности мошонки. Доступ к яичкам осуществлялся путем послойного рассечения до белочной оболочки (рис. 2.4.1). Гемостаз сосудов. Яичко выводилось в рану (рис. 2.4.2). Для доступа к тестикулярной ткани иссекали белочную оболочку размером до 0,5 см (рис. 2.4.3, 2.4.4).

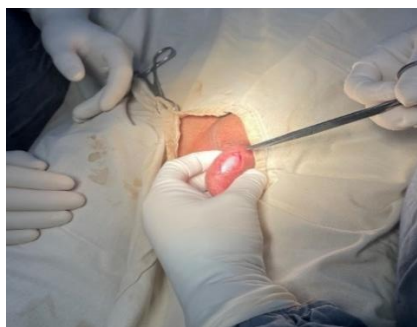


Рис. 2.4.1. Послойное рассечение кожи и белочной оболочки яичка



Рис. 2.4.2. Выведение яичка в операционную рану.



Рис. 2.4.3. Рассечение белочной оболочки.



Рис. 2.4.4. Взятие тестикулярной биопсии.

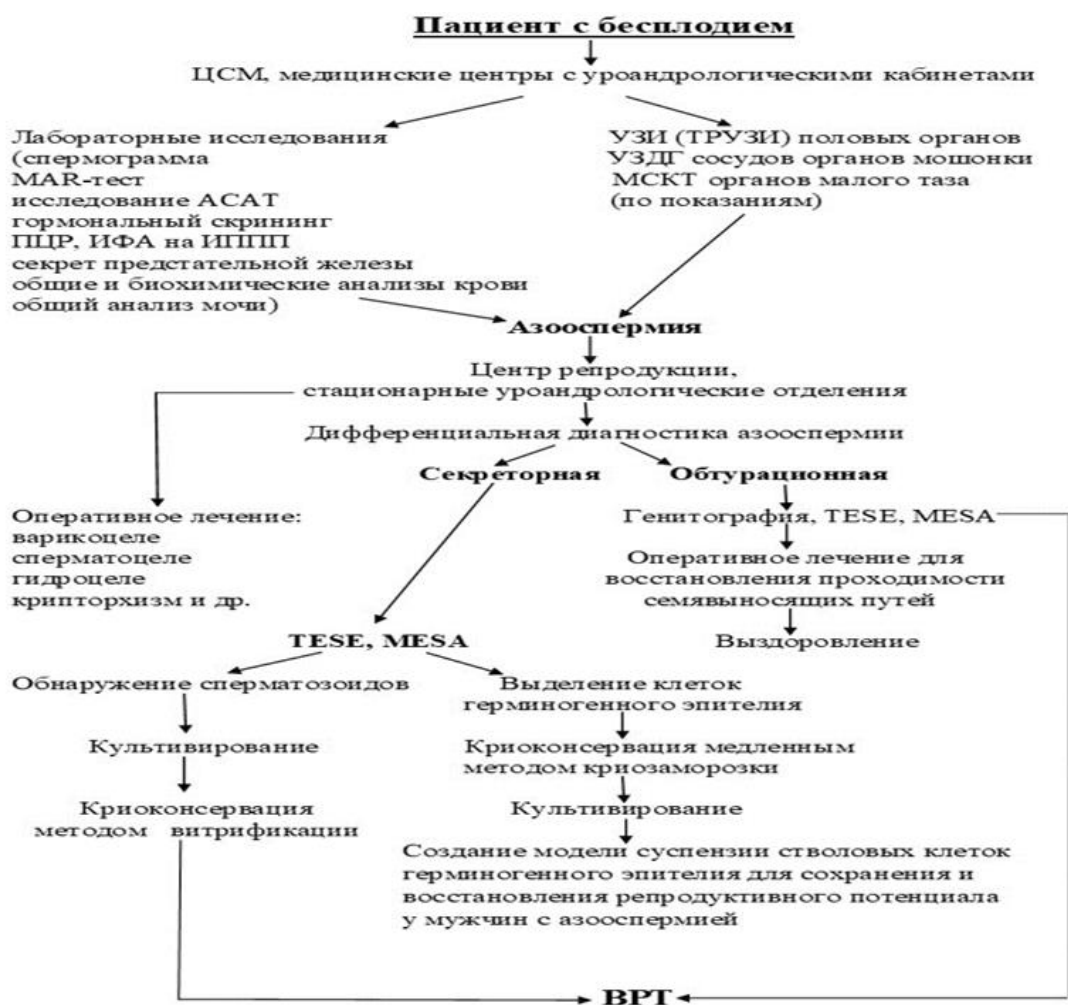


Рисунок 2.4.5 Алгоритм обследования больных с бесплодием.

Так как процесс сперматогенеза мог проходить локально, забор тестикулярного материала проводился в разных слоях яичка. Необходимо отметить, что для получения более детальной информации мы старались брать биоптат размером до 1,0 см², содержащий как можно больше канальцев из нескольких участков яичка для достоверности наличия сперматозоидов. У 22 (20,8%) пациентов произведено взятие нескольких биоптатов из обоих яичек, у 31 (29,2%) - нескольких биоптатов из одного яичка, у 53 (50,0%) лиц – одиночных биоптатов.

2.5. Материал и методология экспериментальных исследований.

В экспериментальном исследовании в качестве объекта исследования брали элементы ткани половых гонад у половозрелых кроликов-самцов в количестве 55 особей (n=55) со средней массой тела 1500-2000 грамм. Экспериментальные животные были разделены на 3 группы:

I группа – опытная (n=15), которым была проведена половая абстиненция методом кастрации яичек. II группа – опытная (n=15), которым проведена половая абстиненция гамма-облучением с экспозицией в 4 рентген (0,04 Зиверт) в сочетании с химиотерапией бикалутамидом в соотношении 0,5 мг на 1 кг веса животного. Далее делали забор одной половой гонады (кастрация). В последующем, проводили аутологичную трансплантацию культивированной и криоконсервированной суспензии сперматогенных и герминогенных клеток в сохраненное яичко. III группа (n=25) разделена на 2 подгруппы: 1 подгруппа (n=15) – опытная, которым после половой абстиненции с гамма-облучением с экспозицией в 4 рентген (=0,04 Зиверт) в сочетании с химиотерапией бикалутамидом 0,5 мг на 1 кг веса, проведена аллотрансплантация криоконсервированной суспензии сперматогенных и герминогенных клеток. 2 подгруппа (n=10) – контрольная, выступали донорами.

2.6. Молекулярно-клеточные и морфофункциональные особенности разработанного метода выделения, культивирования и криозаморозки сперматозоидов и суспензии клеток герминогенного эпителия.

В процессе криозамораживания половых клеток и тканей мы применяли разработанный протокол, основанный на следующих методических этапах: приготовление клеточных суспензий (выделение сперматозоидов, клеток герминогенного эпителия); подготовка клеточных суспензий к криоконсервации с выбором криопротекторов; культивирование сперматозоидов и клеток герминогенного эпителия; собственно замораживание клеток и тканей; хранение криоконсервированных материалов в специальных емкостях при определенных температурах; размораживание половых клеток и тканей; культивирование клеток герминогенного эпителия у экспериментальных животных с целью контроля криорезистентности; использование сперматозоидов для программы вспомогательных репродуктивных технологий и клеток герминогенного эпителия для

экспериментального моделирования с целью сохранения и восстановления репродуктивной функции при азооспермии.

В настоящем исследовании при криозаморозке сперматозоидов мы использовали метод витрификации, при криозаморозке клеток герминогенного эпителия – медленный программируемый метод криоконсервации. Сперматозоиды охлаждали при мгновенном снижении температуры до -196°C с последующим хранением в парах жидкого азота в сосудах Дьюара. Суспензию герминогенных клеток постепенно охлаждали с шагом -100°C каждые 10 минут. При достижении -80°C материал погружался в жидкий азот в течении 15 минут и хранился в сосудах Дьюара при температуре -196°C . Разморозка клеток проводилась на водяной бане при температуре $+34-37^{\circ}\text{C}$.

Процесс культивирования выполнялся в пластиковых чашках NUNC диаметром 2,5 см в среде -199 с добавлением 0,1% эмбриональной телячьей сыворотки, антибиотиков (пенициллин – 100 ед/мл и канамицин – 75 мкг/мл) и среды «HEPES» (pH 7,2–7,4) при температурном режиме $32-34^{\circ}\text{C}$ в течение 7 суток. Сохранность клеток контролировали методом суправитального окрашивания трипановым синим. Базальную и стимулированную секрецию тестостерона исследовали путем инкубации в среде -199 с 20 мМ «HEPES» в течение часа при температуре $32-34^{\circ}\text{C}$. В качестве стимулятора стероидогенеза использовали хорионический гонадотропин (ХГ) в концентрации 1 МЕ/мл от конечного объема.

2.7. Морфологические методы исследования

При морфологическом анализе в большинстве случаев, в биоптатах имелись дегенеративные изменения sustentocytov, атрофические изменения в семенных канальцах представлены, уменьшение числа клеток герминогенного эпителия, что в конечном итоге приводило к прекращению роста сперматид, их слипчиванию и остановке сперматогенеза на стадии сперматоцитов или сперматогониев (рис. 2.7.1).

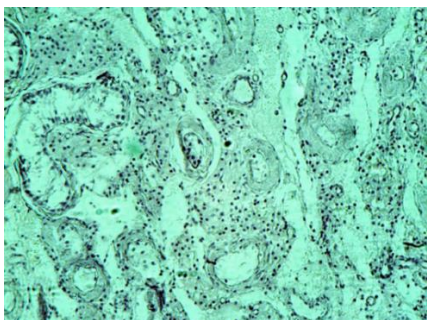


Рис. 2.7.1. Биоптат яичка
Окраска гематоксилин-
эозином. Ув X 280.

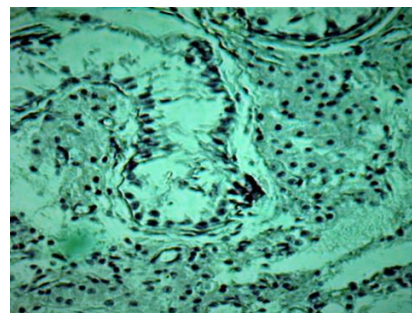


Рисунок 2.7.2. Биоптат яичка.
Окраска гематоксилин-
эозином.
Ув X 280).

При выявлении повышения показателя ФСГ и ЛГ в крови пациентов, определялись соответствующие гистологических изменения в семенных

канальцах. При этом, выявлялись недозревшие формы сперматозоидов. Данный факт приводил к гипоандрогении, которая в свою очередь в сочетании с гиперпролактинемией усугубляла выраженность вторичных половых признаков (рис. 2.7.2).

2.8. Статистическая оценка результатов исследования

Статистическая обработка анализируется по показателям результатов клиническо-урологических исследований. Достоверность различий между группами определяли с помощью параметрического критерия Стьюдента (t – критерия достоверности), ошибки репрезентативности ($\pm m$), вычисление « p » – критерия достоверности безошибочного прогноза $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$ (95,0%, 99,0%, 99,9%). При $p > 0,05$, результат считался статистически не значимым. Статистическая обработка проведена с использованием персонального компьютера «Pentium–IV» и пакета «Microsoft Excel».

В главах 3-4 представлены результаты собственных исследований и их обсуждения.

Глава 3. Результаты собственных исследований. Этиопатогенетические и клинко-диагностические критерии сравнительной оценки пациентов с мужским бесплодием.

3.1. Сравнительная характеристика клинко-диагностических методов исследования у пациентов с азооспермией.

Проведен ретроспективный и проспективный анализ 328 историй болезни пациентов с бесплодием различного генеза, госпитализированных в клинику «Гринклиник» и в Республиканский научный центр урологии (РНЦУ) при Национальном госпитале Министерства здравоохранения Кыргызской Республики в период с 2012 по 2023 годы. Исходя из цели и задач научного исследования из них отобраны 106 медицинских карт с клиническим заключением: «Бесплодие, секреторная форма. Азооспермия».

Возрастной критерий мужчин с азооспермией во всех группах сравнения соответствовал высокому репродуктивному потенциалу - от 20 до 47 лет (таб 3.1.1).

Таблица 3.1.1 – Возрастное распределение пациентов в группах сравнения

№ пп	Группа сравнения	Возраст пациентов						Всего	
		20-29 лет		30-39 лет		40-47 лет			
		Абс. число (n)	Уд. вес (%)	Абс. числ о (n)	Уд. вес (%)	Абс. числ о (n)	Уд. вес (%)	Абс. числ о (n)	Уд. вес (%)
1	1 группа (n=32)	5	4,7	10	9,4	17	16,0	32	30,2
2	2 группа (n=39)	7	6,6	13	12,3	19	17,9	39	36,8

3	3 группа (n=35)	6	5,7	14	13,2	15	15,2	35	33,0
4	Итого (n=106)	18	17,0	37	34,9	51	48,1	106	100,0

При изучении гормонального фона повышение ФСГ отмечалось у 47 (44,3%) пациентов, ЛГ – у 36 (34,0%), пролактина – у 42 (39,6%); уменьшение уровня тестостерона выявлено у 28 (26,4%) лиц с азооспермией (таб. 3.1.2).

Таблица 3.1.2. – Сопоставление нормативных показателей гонадотропных гормонов с результатами исследования.

Гонадотропный гормон	Нормативный показатель	Результат (n=106)		
		Норма	Повышен ие	Понижен ие
		Абс. число (%)	Абс. число (%)	Абс. число (%)
ФСГ	0,95-11,95 МЕ/л	59 (55,7)	47 (44,3)	-
ЛГ	1,24-7,80 МЕ/л	70 (66,0)	36 (44,0)	-
Пролактин	86,0-324,0 мМЕ/л	66 (62,3)	40 (37,7)	-
Тестостерон	6,00-30,00 нмоль/л	78 (73,6)	-	28 (26,4)

Суммарные данные ультразвукового исследования приведены в таблице 3.1.5.

Таблица 3.1.3 – Частота заболеваний по данным УЗИ у пациентов с азооспермией

№ пп	Причина азооспермии по критериям УЗИ	Группы сравнения					
		1 группа		2 группа		3 группа	
		Абс. чис- ло	P±m	Абс. чис- ло	P±m	Абс. чис- ло	P±m
1	Хронический простатит (n=44)	12	11,3±3,0	14	13,2±3,2	18	17,0± 3,6
2	Варикоцеле (n=15)	1	0,9±0,9	10	9,4±2,8	4	3,7±1, 8
3	Орхоэпидидимит (n=9)	4	3,7±1,8	2	1,8±1,2	3	2,8±1, 6
4	Крипторхизм паховая ретенция (n=4)	-	-	3	2,8±1,6	1	0,9±0, 9
5	Гипоплазия яичек (n=20)	6	5,6±2,2	6	5,6±2,2	8	7,5±2, 5
6	Киста придатка яичка (n=6)	1	0,9±0,9	2	1,8±1,2	3	2,8±1, 6

7	Без очаговых изменений (n=21)	9	$8,5 \pm 2,7$	5	$4,7 \pm 2,0$	7	$6,6 \pm 2,0$
---	-------------------------------	---	---------------	---	---------------	---	---------------

Примечание: $P \pm m$ - Частота заболеваний на 100 больных и ошибка репрезентативности.

3.2. Морфологическая оценка результатов исследования тестикулярной ткани яичка у мужчин с азоспермией в условиях криоконсервации.

При гистоморфологическом исследовании у всех (100,0%) пациентов было подтверждено наличие нарушения сперматогенеза.

Пациентам 1 группы (контрольная группа) проведена тестикулярная биопсия с морфологическим исследованием тканей яичка, в результате чего было выявлено отсутствие сперматозоидов в семенных канальцах с атрофией сперматогенного эпителия, также обнаружены молодые и незрелые формы половых клеток, уменьшение и малая активность клеток Лейдига (рис.3.4). У пациентов 2 группы (основная «А» группа) после TESE в пункционном биоптате выявлена остановка сперматогенеза на стадии сперматоцитов или сперматогониев, а также наблюдались атрофические изменения в семенных канальцах, снижение функции гранулоцитов (рис. 3.5, 3.6). У пациентов 3 группы (основная «В» группа) визуализировались более выраженные морфогистологические нарушения в семенных канальцах, причем патологическим изменениям были подвержены практически все слои герминогенного эпителия (рис. 3.7, 3.8).

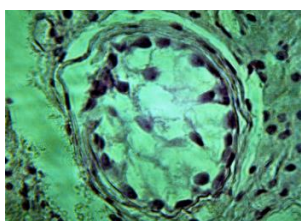


Рис. 3.2.1. Биоптат яичка.
Окраска гематоксилин-эозином.
Ув X 480.

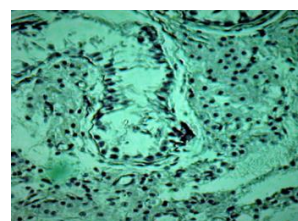


Рис. 3.2.2. Биоптат яичка.
Окраска гематоксилин-эозином.
Ув X 280.

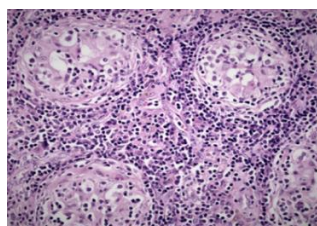


Рис. 3.2.3. Биоптат яичка.
Окраска гематоксилин-эозином.
Ув X 280.

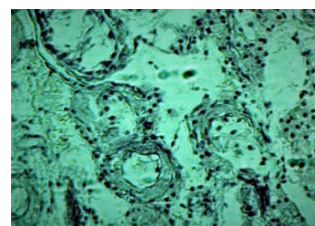


Рис. 3.2.4. Биоптат яичка.
Окраска гематоксилин-эозином.
Ув X 280.

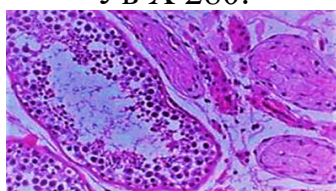


Рис. 3.2.5. Биоптат яичка.
Окраска гематоксилин-эозином.
Ув X 280.

3.3. Практическое применение тестикулярных сперматозоидов и герминогенных клеток, полученных у мужчин с азооспермией при TESE. Тестикулярные сперматозоиды у лиц с азооспермией были найдены у 39 (36,8%) исследуемых и определены во 2 группу сравнения. Исследования показали, что после оттаивания 75% сперматозоидов проявляли мембранную и морфологическую целостность. Исследования показали, что выделенная суспензия клеток герминогенного эпителия после культивирования и процессов криозаморозки-оттаивания проявляет выраженную криорезистентность и сохранность генеративных и пролиферативных свойств. При супровитальном исследовании тестикулярных сперматозоидов и клеток герминогенного эпителия определяется их морфофункциональная целостность с наличием всех структурных элементов (рис. 3.3.1, 3.3.2). Цитогенетический тест с окраской хроматина показал, что конденсированный хроматин в головке сперматозоидов свидетельствует об отсутствии фрагментации ДНК (рис. 3.3.3). При использовании разработанного комбинированного криопротектора, отмечалась выраженная криорезистентность клеток герминогенного эпителия (рис. 3.3.4)

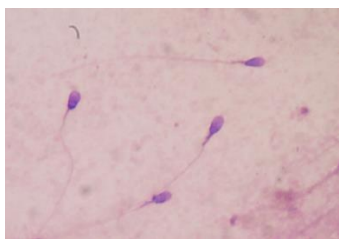


Рис. 3.3.1. Тестикулярные сперматозоиды под микроскопом. Окраска эозином и нигрозином. Ув X 460.

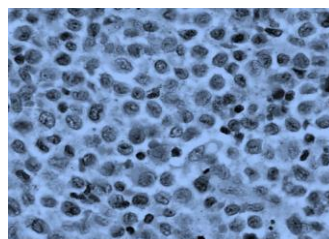


Рис.3.3.2. Выделенная суспензия клеток герминогенного эпителия. Окраска гематоксилин и эозином. Ув X 480.

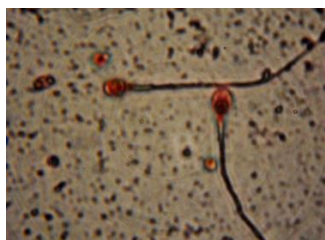


Рис. 3.3.3. Цитогенетическая картина тестикулярных сперматозоидов. Окраска акридиновым оранжевым. Ув X 620.

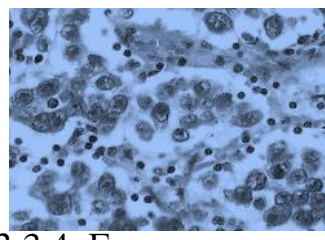


Рис 3.3.4. Герминогенные клетки после процедуры заморозки-оттаивания. Окраска гематоксилин и эозином. Ув X 480.

Результаты наших исследований показали, что применение метода TESE с учетом поэтапного обследования пациентов и изучения структуры тестикулярной ткани позволяет получить жизнеспособные сперматозоиды и выделить клетки герминогенного эпителия (клетки Сертоли, Лейдига, ССК, сперматогонии и сперматиды разных стадий дифференцировки) для сохранения и восстановления фертильности у мужчин репродуктивного возраста.

Глава 4. Экспериментальные исследования и коррекция фертильности у животных при моделировании азооспермии.

4.1. Морфофункциональная характеристика показатели тестикулярной ткани у экспериментальных животных.

Для достоверного изучения поставленной цели и задач научного исследования были проведены экспериментальные исследования на 55 кроликах половозрелого возраста.

Таблица 4.1.1. - Распределение экспериментальных животных на группы сравнения

Сравнительные группы		Модель азооспермии	Проведенные процедуры	Целевое использование
I группа опытная (n=15)		Половая абстиненция 2 месяца	Кастрация половых гонад	Подтверждение экспериментальной модели азооспермии
II группа опытная (n=15)		<i>Сочетанное воздействие.</i> Половая абстиненция 2 месяца, химиотерапия, гамма-облучение	Кастрация одной половой гонады, хирургическая подсадка аутологичного материала в контрлатеральное яичко	Подтверждение экспериментальной модели азооспермии при сочетанном воздействии. Пересадка аутологичной криоконсервированной и культивированной тестикулярной ткани
III группа (n=25)	1 п/гр. опыт (n=15)	<i>Сочетанное воздействие.</i> Половая абстиненция 2 месяца, химиотерапия, гамма-облучение	Кастрация одной половой гонады, хирургическая подсадка аллогенного материала в контрлатеральное яичко	Пересадка аллогенной, криоконсервированной тестикулярной ткани от здоровых животных
	2 п/гр. контроль (n=10)	Контроль нормы. Донорский материал для аллогенной пересадки в 1 подгруппу животных		

При проведении морфологического исследования тестикулярных биоптатов у экспериментальных животных контрольной группы отмечалась целостность половых гонад, полнотелость семенных канальцев, отсутствие патологических изменений в паренхиме, достаточное присутствие интерстициальных клеток (рис. 4.1.1).

При морфологическом исследовании криоконсервированной тестикулярной ткани у экспериментальных животных I и II группы было

отмечено, что сперматогенный эпителий имел деструктивные изменения с запустеванием извитых семенных канальцев, сперматоциты 1 и 2 порядков находящиеся в адлюминальном пространстве набухали, в следствии отека плохо определялись клетки Сертоли. Так как паренхима яичек была отека, ядра интерстициальных клеток становились пикнотичными и располагались единично между извитыми семенными канальцами (рис. 4.1.3).

При морфологическом исследовании криоконсервированной тестикулярной ткани у экспериментальных животных I и II группы было отмечено, что сперматогенный эпителий имел деструктивные изменения с запустеванием извитых семенных канальцев, сперматоциты 1 и 2 порядков находящиеся в адлюминальном пространстве набухали, в следствии отека плохо определялись клетки Сертоли. Так как паренхима яичек была отека, ядра интерстициальных клеток становились пикнотичными и располагались единично между извитыми семенными канальцами (рис. 4.3 и 4.4).

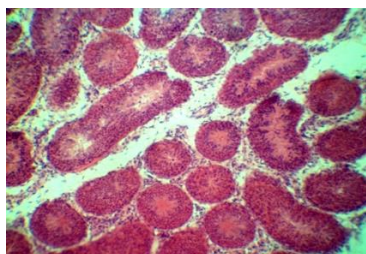


Рис. 4.1.1. Гистологическая картина семенных канальцев кроликов III группы (2 подгруппа контроль). Окраска Н&Е. Ув X 120.

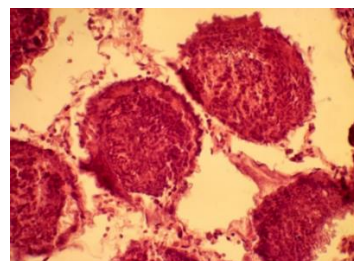


Рис. 4.1.3. Гистологическая картина ткани тестисов и извитых семенных канальцев у экспериментальных животных I группы. Окраска Н&Е. Ув X 120.

4.2. Результаты морфоцитологических исследований криоконсервированной культуры клеток интерстиция и спермальных стволовых клеток у экспериментальных животных

Первичная смесь герминогенных и спермальных стволовых клеток семенников у экспериментальных животных была получена после ферментативной обработки тестикулярного биоптата II и III группы экспериментальных животных с последующим разделением в градиенте плотности сахарозы и была криозаморожена с использованием комбинированного криопротектора на основе 5% ДМСО, 5% глицерина с добавлением 3% реополиглукина. Морфоцитологическое исследование культуры клеток на 1-е сутки культивирования после процедуры заморозки-оттаивания выявило значительное количество одиночных и групповых клеток округлой формы (рис. 4.2.1).

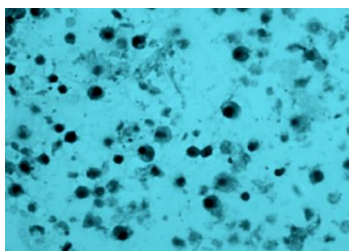


Рис. 4.2.1. Морфоцитологическая картина криоконсервированного материала в культуре на 1 сутки культивирования. Супровитальная окраска трипановым синим. Ув х 480.

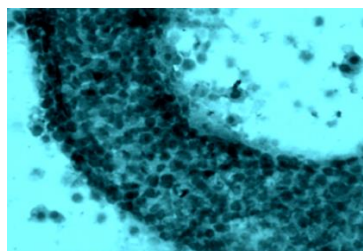


Рис. 4.2.2. Морфоцитологическая картина материала в культуре на 7-е сутки культивирования криоконсервированных клеток герминогенного эпителия. Супровитальная окраска трипановым синим. Ув X 480.

Более плотное и сформированное расположение клеток с митотическим делением наблюдалось на 7-й день культивирования (рис. 4.2.2). Все вышеуказанные факты свидетельствуют о том, что, при культивировании суспензии герминогенных клеток тестисов у экспериментальных животных II и III группы после криоконсервации, наблюдался выраженный генеративный и пролиферативный потенциал, хорошо стимулируемый хорионическим гонадотропином (ХГЧ).

4.3. Результаты сравнительных морфологических и генеративных характеристик после криоконсервирования алло- и аутогенной фракции герминогенных клеток у экспериментальных животных

В культивированном материале суспензии клеток интерстиция после процедуры заморозки-оттаивания, со стимуляцией ХГЧ человека высокий показатель тестостерона был зарегистрирован на 3-и сутки (15,3 нг/мл). На 7-е сутки культивирования уровень тестостерона существенно снижался, что при длительном культивировании соответствовало истощению холестерина и жирных кислот, и было расценено как энергетическое истощение (рис. 4.3.1).

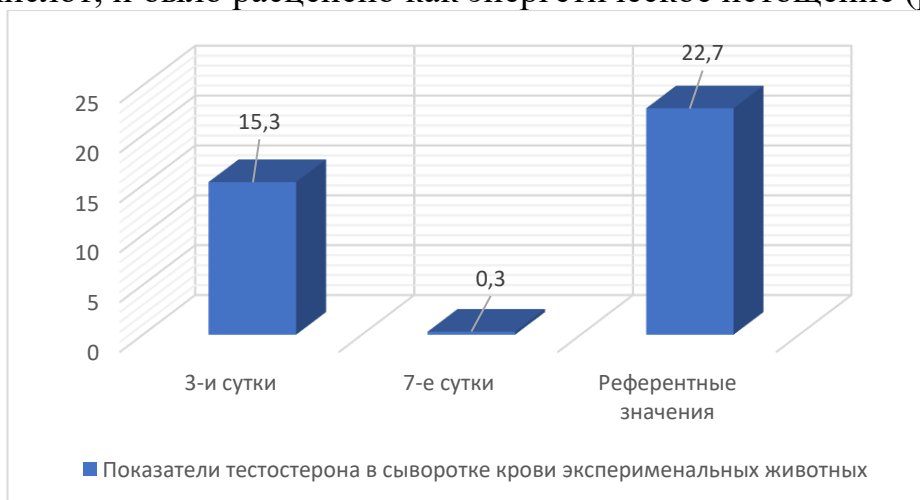


Рис. 4.3.1. Средний уровень тестостерона в культивированном материале суспензии клеток интерстиция при стимуляции ХГЧ.

При гистологическом анализе яичек у экспериментальных животных III группы 1 подгруппы после пересадки аллогенной криоконсервированной суспензии клеток герминогенного эпителия, наблюдалось заселение семенных канальцев здоровой субпопуляцией сперматогенных клеток, увеличение клеток Сертоли и Лейдига. Отмечается появление дифференцированных сперматозоидов (рис. 4.3.2 и 4.3.3).

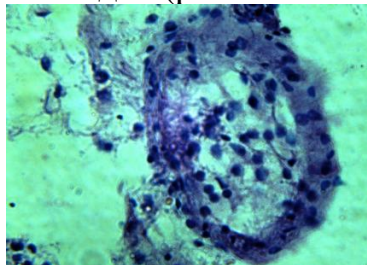


Рис. 4.3.2. Гистологическая картина биоптата яичка у кроликов III группы после пересадки аллогенной донорской криоконсервированной суспензии клеток герминогенного эпителия (1 подгруппа). Окраска Н&Е. Ув X 480.

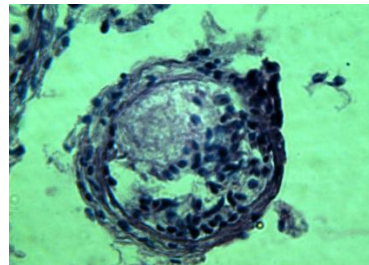


Рис. 4.3.3. Гистологическая картина биоптата яичка 2 группы животных, после аутологичной пересадки криоконсервированного материала. Окраска Н&Е. Ув X 480.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.

1. Выделенная суспензия клеток герминогенного эпителия полученная методом TESE, после культивирования и криозаморозки проявляет выраженную криорезистентность, сохранность генеративных и пролиферативных свойств в виде морфофункциональной целостности и мембранной стойкости в условиях сверхнизких температур.
2. Применение метода TESE и изучения структуры тестикулярной ткани позволяет успешно получить жизнеспособные сперматозоиды и выделить клетки герминогенного эпителия для сохранения и восстановления фертильности у мужчин репродуктивного возраста.
3. Согласно клинико-диагностической сопоставимости результатов исследования разработанный алгоритм поэтапного ведения пациентов с бесплодием способствует выработке единых тактических подходов к диагностике, лечению и рекомендательных основ с целью своевременного выявления лиц с мужским фактором бесплодия, уменьшению экономических затрат на дорогостоящие диагностические и лечебные манипуляции, а также сохранению и восстановлению репродуктивного потенциала у мужчин с азооспермией.
4. При аутологичной пересадке криоконсервированной суспензии клеток герминогенного эпителия экспериментальным животным 2 группы отмечается формирование новых базальных структур тестисов, наподобия своеобразных «ниш», в просвете канальцев присутствуют только

слабодифференцированные спермальные клетки. При пересадке аллогенного криоконсервированного материала у экспериментальных животных 3 группы наблюдается более плотная компоновка базальной части семенных канальцев и наличие сперматогенных клеток различной дифференцировки, за счет содержания в материале детерминированных спермальных клеток и клеточных колониестимулирующих факторов.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Все лица, обратившиеся к специалистам по поводу бесплодного брака длительностью более 6 месяцев - 1 года, должны проходить комплексный мониторинг исследования, направленный на выявление возможных этиоатогенетических факторов риска развития патоспермии, а также на дифференциальную секреторную или обтурационную типа бесплодия.
2. При верификации диагноза секреторной азооспермии необходимо проведение оперативного забора тестикулярной или эпидидимальной биопсии методами TESE, MESA с целью обнаружения и выделения сперматозоидов или клеток герминогенного эпителия для изучения их структуры с последующей криоконсервацией и принятия дальнейшего решения о проведении ВРТ (ИКСИ).
3. При выявлении «мужского фактора» бесплодия должна быть проведена криоконсервация сперматозоидов и клеток герминогенного эпителия с целью сохранения и восстановления фертильности у мужчин.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ ТРУДОВ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ.

1. Абаралиев А. К. Морфофункциональное состояние и стероидогенный потенциал тестикулярной ткани при криоконсервации [Текст] / А. К. Абаралиев, А. С. Сооданбекова // Молодой ученый. 2016. - №20(124). – С.1-3. То же: [Электронный ресурс]. - Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=27202552>.
2. Абаралиев А.К. Морфофункциональные показатели сперматозоидов при криоконсервации полученные с использованием методов MESA и TESE; микрохирургическая эпидидимальная аспирация сперматозоидов и получение сперматозоидов при проведении открытой биопсии яичка у больных с азооспермией [Текст] / А. К. Абаралиев, Ж.К Райымбеков Ж, Райымбекова Г.К. // Вестник КГМА. -2017. -№3. –С.12-15. То же: [Электронный ресурс]. - Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=29855107> .
3. Абаралиев А. К. Морфофункциональные показатели сперматозоидов при криоконсервации секреторного бесплодия у мужчин [Текст] / А. К. Абаралиев, Г. С. Чернецова , Ч. Б. Алимов , Ж. К Райымбеков. // Вестник

- КРСУ. -2017. -№10. -том17. -С3-6. То же: [Электронный ресурс]. - Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=32358106>
4. Абаралиев А. К. Клинический опыт применения эпидидимальных и тестикулярных сперматозоидов, полученных у мужчин с обструктивной и необструктивной формами азооспермии [Текст] / А. К. Абаралиев, Г. С. Чернецова, Н. Ж. Садырбеков, Б. А. Боталаев, Ж. К. Райымбеков, Г. К. Райымбекова. // Медицина Кыргызстана. -2018. -№4. -С92-95. То же: [Электронный ресурс]. - Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=36493435>
5. Абаралиев А. К. Морфологическая и генеративная характеристика интерстициальных клеток яичек у мужчин с азооспермией [Текст] / А.К. Абаралиев, Г.С. Чернецова, Г. К. Райымбекова. И. В. Колесниченко, Ч. Б. Алимов. // Здоровья и образования в XXI веке. -2018. -№12. -том20. -С14-18. То же: [Электронный ресурс]. - Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=36545722>
6. Абаралиев А. К. Морфофункциональная характеристика и криорезистентные показатели тестикулярной ткани у мужчин с азооспермией [Текст] / А.К. Абаралиев, Г. С. Чернецова, Н. Ж. Садырбеков, Ж. К. Райымбеков, Г. К. Райымбекова. // Аспирант. -2021. -№1. -С14-18. То же: [Электронный ресурс]. - Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=44709524>
7. Абаралиев А. К. Экспериментальное моделирование коррекции андрогенной дисфункции и пролиферативной активности у мужчин с азооспермией с применением криоконсервированной суспензии клеток интерстиция и спермальных стволовых клеток [Текст] / А. К. Абаралиев, Г. С. Чернецова, Г. К. Райымбекова, Н.Ж. Садырбеков, А. Уулу. Оскон. // Вестник КРСУ. -2022. -№1. -том 22. -С3-8. То же: [Электронный ресурс]. - Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=48164431>
8. Абаралиев А. К. Клинико-морфологическая характеристика биоптатов яичек при бесплодии у мужчин с азооспермией [Текст] / А. К. Абаралиев, Ж. К. Райымбеков, Г. К. Райымбекова, Н. Р. Рыскулбеков. // Вестник КРСУ. -2022. -№1. -Том 22. -С.8-14. То же: [Электронный ресурс]. - Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=48164432>
9. Абаралиев А.К. Сохранение мужской фертильности в кыргызской республике [Текст] / А. К. Абаралиев, Г. С. Чернецова, Н. Ж. Садырбеков, Г. К. Райымбекова, Ж. К. Райымбеков. // Здравоохранение Кыргызста. -2022. -№3. -С.91-97. То же: [Электронный ресурс]. - Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=49427495>
10. Абаралиев А.К. Фертильность мужчин, перенесших хирургическое вмешательство в репродуктивную систему [Текст] / А.К. Абаралиев, Н. Р. Рыскулбеков, Д. А. Суранов, Н. Ж. Садырбеков, У.Б. Кубанычбек // Здравоохранение Кыргызстанп. - 2022. -№3. - С.72-77. То же: [Электронный ресурс]. - Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=49427492>

Абаралиев Акылбек Кудайназаровичтин «Криоконсервацияланган уруктук тканын колдонуу менен эркектердин репродуктивдуу функциясын сактоо жана калыбына келтирууну оптималдаштыруу» аттуу темадагы 14.01.23- урология адистиги боюнча медицина илимдеринин кандидаты деген илимий даражасын коргоо учун жазылган диссертациясынын авторефераты.

РЕЗЮМЕСИ

Түйүндүү сөздөр: азооспермия, криоконсервациялоо, герминогендик клеткалар, жумуртканын биопсиясы, фертильдикти калыбына келтируу.

Изилдөөнүн максаты: Криоконсервацияланган урук тканын колдонуу менен эркектердин андрогендик жана сперматогендик функцияларын калыбына келтирүүнүн патогенетикалык жана негизделген ыкмасын иштеп чыгуу. Симуляцияланган азооспермия менен эксперименталдык жаныбарлардын тукумсуздугун хирургиялык коррекциялоону оптималдаштыруу.

Изилдөөнүн объектиси: Документте 25 жаштан 42 жашка чейинки тукумсуздук менен операция жасалган бейтаптардын тарыхы берилген. (n=106). Криоконсервацияланган урук тканын хирургиялык жол менен кайра отургузуу жолу менен жаныбарлардын симуляцияланган азооспермиясын коррекциялоо боюнча эксперименталдык изилдөөлөрдүн натыйжалары да чагылдырылган.

Изилдөө предмети: азооспермия менен ооруган эркектердин төрөттүн сакталышынын жана калыбына келтирилишинин комплекстүү этиопатогенетикалык жана гистоморфологиялык анализи

Изилдөө методдору: ретроспективдүү, гистоморфологиялык, цитогенетикалык, көмөкчү репродуктивдүү технологиялардын ыкмалары.

Алынган натыйжалар жана алардын илимий жаңылыгы.

Азооспермиясы бар эркектерде сперматозоиддерди алуунун минималдуу инвазивдик хирургиялык ыкмаларынын өзгөчөлүктөрү аныкталган. Клиникалык жана эксперименталдык изилдөөлөрдүн жыйынтыктарынын негизинде азооспермия менен ооруган эркектерде андрогендик жана сперматогендик дисфункцияны коррекциялоо үчүн урук клеткаларынын жана интерстициалдык клеткалардын (Сертоли, Лейдиг клеткалары) жана сперматозоиддердин өзөк клеткаларынын фракциясын экстракциялоо жана криоконсервациялоо протоколу иштелип чыккан.

Колдонуу чөйрөсү: урология.

РЕЗЮМЕ

диссертации Абаралиева Акылбека Кудайназаровича на тему «Оптимизация сохранения и восстановления репродуктивной функции у мужчин с применением криоконсервированной тестикулярной ткани» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.23 – урология

Ключевые слова: азооспермия, криоконсервация, герминогенные клетки, биопсия яичек, восстановление фертильности.

Цель исследования: разработать патогенетически и гистоморфологически обоснованный способ восстановления андрогенной и сперматогенной функций у мужчин с использованием криоконсервированной тестикулярной ткани. Оптимизация хирургической коррекции infertility у экспериментальных животных с моделированной азооспермией.

Объект исследования: в работе изложены истории болезней прооперированных пациентов с бесплодием в возрасте от 25 до 42 лет. (n=106). Также отражены результаты экспериментальных исследований коррекции смоделированной азооспермии у животных путем хирургической подсадки криоконсервированной тестикулярной ткани.

Предмет исследования: комплексный этиопатогенетический и гистоморфологический анализ по сохранению и восстановлению фертильности у мужчин с азооспермией

Методы исследования: ретроспективное, гистоморфологическое, цитогенетическое, методы вспомогательных репродуктивных технологий.

Полученные результаты и их научная новизна.

Определены особенности проведения малоинвазивных хирургических методов экстракции сперматозоидов у мужчин с азооспермией. На основе результатов клинических и экспериментальных исследований разработан протокол экстракции и криоконсервирования фракции герминогенных и интерстициальных клеток яичка (клетки Сертоли, Лейдига) и стволовых спермальных клеток для коррекции андрогенной и сперматогенной дисфункции мужчин с азооспермией. Изучены морфофункциональные и криорезистентные особенности тестикулярных и эпидидимальных сперматозоидов в сохранении и восстановлении фертильности у мужчин с азооспермией в Кыргызской Республике.

Область применения: урология.

SUMMARY

dissertation of Abaraliev Akylbek Kudainazarovich on the topic «Optimization of the preservation and restoration of reproductive function in men using cryopreserved testicular tissue» for the degree of candidate of medical sciences in the specialty 14.01.23 - urology

Key words: azoospermia, cryopreservation, germ cells, testicular biopsy, fertility restoration.

Purpose of the study: To develop a pathogenetically and histomorphologically substantiated method for restoring androgenic and spermatogenic functions in men using cryopreserved testicular tissue. Optimization of surgical correction of infertility in experimental animals with simulated azoospermia.

Subject of study: a comprehensive etiopathogenetic and histomorphological analysis of the preservation and restoration of fertility in men with azoospermia

Research methods: retrospective, histomorphological, cytogenetic, methods of assisted reproductive technologies.

The obtained results and their scien

Object of study: the work presents medical histories of operated patients with infertility aged from 25 to 42 years. (n=106). The results of experimental studies of the correction of simulated azoospermia in animals by surgical replantation of cryopreserved testicular tissue are also reflected.

Tific novelty.

The features of minimally invasive surgical methods of spermatozoa extraction in men with azoospermia were determined. Based on the results of clinical and experimental studies, a protocol was developed for the extraction and cryopreservation of the fraction of testicular germ and interstitial cells (Sertoli, Leydig cells) and sperm stem cells to correct androgenic and spermatogenic dysfunction in men with azoospermia.

Scope: urology.