

УДК: 616-001:612.61:612.617

## Кыргыз Республикасында эркектердин фертильдуулугун сактоо

А.К.Абаралиев <sup>1</sup>, Г.С.Чернецова <sup>1</sup>, Н.Ж.Садырбеков <sup>2</sup>, Г.К.Раймбекова <sup>3</sup>, Ж.К.Райымбеков <sup>4</sup><sup>1</sup> Б.Н. Ельцин атындагы Кыргыз-Россия Славян университети, Бишкек, Кыргыз Республикасы<sup>2</sup> Саламаттыкты сактоо министрлигине караштуу Улуттук госпиталдын урология бөлүмү, Бишкек, Кыргыз Республикасы<sup>3</sup> И. К. Ахунбаев атындагы Кыргыз мамлекеттик медициналык академиясы, Бишкек, Кыргыз Республикасы<sup>4</sup> НПК «Эльдос» криомедицина жана клетка технологиялык илимий изилдөө борбору, Бишкек, Кыргыз Республикасы

**Корутунду.** Тукумсуз никедеги ар кандай себептерге байланыштуу эркектердин тукумсуздугу 30–40% түзөт. Медицинадагы актуалдуу маселе - бул эркектердин тукумдуулугун калыбына келтирүү жана сактоо. Макалада тестикулярдык жана эпидималдык сперматозоиддердин бириккен криопротекторлорунун жардамы менен өтө төмөн температурада крио-тондуруу натыйжалары берилген. Иштин жүрүшүндө гистоморфологиялык, морфометриялык, супровиталды изилдөө менен микрокөчүрүүнүн жарык-оптикалык ыкмалары, биохимиялык жана цитогенетикалык изилдөө ыкмалары колдонулган. Бул ыкмалар ткандардын жана клеткалардын интравиталдык касиеттерин сактоо менен патологиялык өзгөрүүлөргө объективдүү жана маалыматтык баа берүүгө мүмкүндүк берет. Иш эркектердин тукумдуулугун сактоо жана калыбына келтирүү үчүн стероиддик жана пролиферативдик потенциалды сактоо менен жыныс клеткаларын криотондуруу мүмкүнчүлүгүн көрсөтөт. Криоконсервацияланган урук клеткалары өстүрүү учурунда генеративдик жана пролиферативдик потенциалдын айкын сакталышын көрсөттү. Изилдөө көрсөткөндөй, тестикулярдык жана эпидималдык сперматозоиддер, сперматогенездин алгачкы клеткалары, ошондой эле жыныс клеткаларынын эпителий клеткалары ультра төмөн температуранын шарттарында жакшы крио-каршылык көрсөтүүнү көрсөтөт. Келечекте криоконсервацияланган жыныстык жана жыныстык клеткалар жардамчы репродуктивдүү технологиялардын программаларында, ошондой эле эркектердин сперматогендик жана стероиддик потенциалын калыбына келтирүүдө колдонулушу мүмкүн.

**Негизги создор:** тукумсуздук, азооспермия, эркектердин тукумдуулугу, жыныс клеткалары, криоконсервация.

## Сохранение мужской фертильности в Кыргызской Республике

А.К.Абаралиев <sup>1</sup>, Г.С.Чернецова <sup>1</sup>, Н.Ж.Садырбеков <sup>2</sup>, Г.К.Раймбекова <sup>3</sup>, Ж.К.Райымбеков <sup>4</sup><sup>1</sup> Кыргызско-Российский Славянский университет имени Б. Н. Ельцина, Бишкек, Кыргызская Республика<sup>2</sup> Национальный госпиталь отделение урологии при Министерстве здравоохранения, Бишкек, Кыргыз Республикасы<sup>3</sup> Кыргызская государственная медицинская академия имени И. К. Ахунбаева, Бишкек, Кыргызская Республика<sup>4</sup> Научно-исследовательский центр криомедицины и клеточных технологий НПК «Эльдос», Бишкек, Кыргызская Республика**Адрес для переписки:**Абаралиев Акылбек Кудайназарович, 720000,  
Кыргызская Республика, Бишкек, ул. Киевская 44,  
КРСУ им. Б.Н. Ельцина  
Тел.: + 996 555333565  
E-mail: dr.akyl@mail.ru**Contacts:**Abaraliev Akylbek Kudainazarovich, 720000,  
44 Kyiv str., Bishkek, Kyrgyz Republic  
B.N. Yeltsin KRSU  
Phone: + 996 555333565  
E-mail: dr.akyl@mail.ru**Для цитирования:**

Абаралиев А. К., Чернецова Г. С., Садырбеков Н. Ж., Раймбекова Г. К., Райымбеков Ж. К. Сохранение мужской фертильности в Кыргызской Республике. Здравоохранение Кыргызстана 2022, № 3, с. 91-95. doi.10.51350/zdravkg2022931391

**Citation:**

Abaraliev A.K., Chernetsova G.S., Sadyrbekov N.Zh., Raimbekova G.K., Raimbekov Zh.K. Preservation of male fertility in the Kyrgyz Republic. Health care of Kyrgyzstan 2022, No. 3, pp. 91-95. doi.10.51350/zdravkg2022931391

**Резюме.** Мужское бесплодие различного генеза в бесплодном браке составляет 30-40 %. Актуальным вопросом в медицине является восстановление и сохранение мужской фертильности. В статье изложены результаты криозаморозки в условиях сверхнизких температур с применением комбинированных криопротекторов тестикулярных и эпидимальных сперматозоидов, полученных путем биопсии яичка. В ходе работы были применены гистоморфологические, морфометрические, светооптические методы микрокопирования с супровитальным исследованием, биохимические и цитогенетические методы исследования. Данные методы позволяют более объективно и информативно оценить патологические изменения с сохранением прижизненных свойств ткани и клеток. В работе показана возможность криозаморозки герминогенных клеток с сохранением стероидогенного и пролиферативного потенциала для сохранения и восстановления фертильности мужчин. Криоконсервированные герминогенные клетки в ходе культивирования проявили выраженную сохранность генеративных и пролиферативных потенциалов. В ходе исследования было показано что тестикулярные и эпидимальные сперматозоиды, ранние клетки сперматогенеза, а также клетки герминогенного эпителия проявляют хорошие криорезистентные показатели в условиях сверхнизких температур. В дальнейшем криоконсервированные половые и герминогенные клетки могут использоваться в программах вспомогательных репродуктивных технологий, а также в восстановлении сперматогенного и стероидогенного потенциала мужчин.

**Ключевые слова:** бесплодие, азооспермия, мужская фертильность, герминогенные клетки, криоконсервация.

## Preservation of male fertility in the Kyrgyz Republic

A.K. Abaraliev <sup>1</sup>, G.S. Chernetsova <sup>1</sup>, N. Zh. Sadyrbekov <sup>2</sup>, G.K. Raimbekova <sup>3</sup>,  
Zh. K. Raiymbekov <sup>4</sup>

<sup>1</sup> *Kyrgyz-Russian Slavic University named after B. N. Yeltsin, Bishkek, Kyrgyz Republic*

<sup>2</sup> *National Hospital Department of Urology under the Ministry of Health, Bishkek, Kyrgyz Republic*

<sup>3</sup> *Kyrgyz State Medical Academy named after I. K. Akhunbaev, Bishkek, Kyrgyz Republic*

<sup>4</sup> *Research Center for Cryomedicine and Cellular Technologies NPK "Eldos", Bishkek, Kyrgyz Republic*

**Abstract.** Male infertility of various origins in an infertile marriage is 30-40%. An urgent issue in medicine is the restoration and preservation of male fertility. The article presents the results of cryo-freezing at ultra-low temperatures using combined cryoprotectors of testicular and epididymal spermatozoa obtained by testicular biopsy. In the course of the work, histomorphological, morphometric, light-optical methods of microcopying with suprovital examination, biochemical and cytogenetic research methods were applied. These methods allow a more objective and informative assessment of pathological changes while preserving the intravital properties of tissue and cells. The work shows the possibility of cryofreezing of germ cells with the preservation of steroidogenic and proliferative potential for the preservation and restoration of male fertility. Cryopreserved germ cells during cultivation showed a pronounced preservation of generative and proliferative potentials. The study showed that testicular and epididymal spermatozoa, early cells of spermatogenesis, as well as germ cell epithelium cells show good cryo-resistance performance under conditions of ultra-low temperatures. In the future, cryopreserved sex and germ cells can be used in programs of assisted reproductive technologies, as well as in restoring the spermatogenic and steroidogenic potential of men.

**Key words:** infertility, azoospermia, male fertility, germinogenic cells, cryopreservation.

### Введение

В настоящее время наблюдается тенденция роста мужского бесплодия что является актуальным вопросом современной андрологии [1,2,3] Мужская инфертильность обусловлена обструктивной и необструктивной (секреторной) формами азооспермии, наличием злокачественных новообразований, ретроградной эякуляции при сахарном диабете, травмами позвоночника, приводящих к полной потере либидо, а также наличие других патологий, при

которых требуются использование различных методов сохранения фертильности и проведения вспомогательных репродуктивных технологий [2,4,5,6,7]. К современным методам сохранения мужской фертильности относятся криоконсервация тестикулярных и эпидимальных сперматозоидов, фрагментов тестикулярной ткани, герминогенных клеток яичка, а также спермальных стволовых клеток [2,8,9,10,11]. Сохранение вышеуказанных клеток дает возможность иметь детей семейным парам с наличием мужского фактора бесплодия.

*Цель исследования:* определить криорезистентные характеристики криозамороженных половых и герминогенных клеток.

## Материалы и методы исследования

В статье описаны криорезистентные характеристики криозаморозки половых и герминогенных клеток у 40 мужчин с использованием микрохирургических методов выделения клеток из придатка и яичка отделений урологии Национального госпиталя при Министерстве Здравоохранения Кыргызской Республики. Экстракция материала была проведена методом открытой биопсии придатка (MESE) и яичка (microTESE) с непосредственным супровитальным морфологическим исследованием биоптата тестикулярной ткани. При обнаружении сперматозоидов биоптат фиксировался в стерильной пробирке со средой культивирования «Spermprepare» и отправлялся в лабораторию эмбриологии Научно-исследовательского центра криомедицины и клеточных технологий НПК «ЭЛЬДОС». Для объективного исследования полученных клеток применялись морфометрические, светооптические методы микропирования с супровитальным исследованием, биохимические и цитологические методы исследования.

Криоконсервация сперматозоидов проводилась методом витрификации с применением криопротекторов на основе глицерина и диметилсульфоксида (ДМСО). Герминогенные и спермальные стволовые клетки замораживались на криобане с медленным пошаговым охлаждением и конечным погружением в жидкий азот. Оттаивание проводили на программируемой водяной бане, при температурном режиме 340С. Полученные результаты обрабатывали статистически с использованием пакета программ для Windows.

## Результаты исследования

При анализе гормонального фона из 40 мужчин с бесплодием у 25(62,5%) было выявлено повышенное содержание фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), у 15(37,5%) повышенный уровень лютеинизирующего гормона (ЛГ), что обусловлено азооспермией. Кроме того, у 14 (35%) мужчин отмечен повышенный уровень пролактина. При этом, у всех 40 мужчин уровень тестостерона имел тенденцию незначительного снижения от 5 до 8,5%.

При гистологическом анализе среди 40 обследованных мужчин заключение о нормальном сперматогенезе было выявлено только у 4 пациентов (10%), обструкция семявыносящих канальцев диагностирована у 10 пациентов (24%), и в остальном случае с наличием признаков хронического эпидидимита. Синдром наличия клеток Сертоли выявлен

у 2 (5%) пациентов. Гиалинизации канальцев с признаками утолщения базальной структуры и отсутствием всех форм половых клеток, клеток интерстиция и Сертоли выявлена в 5(12,5%) наблюдениях. В 28(70%) случаях в биоптатах имелись признаки микролитиаза с наличием очагового отека интерстиция, которые характеризуются наличием внутриканальцевых включений.

У всех 40 мужчин изучена криорезистентность и акросомальная активность сперматозоидов, полученных путем биопсии. После разморозки акросомальная активность хорошо сохраняется. Тестикулярные сперматозоиды были найдены у 38(97,5%) пациентов. После оттаивания 75% сперматозоидов проявили мембранную целостность.

Были проведены исследования на выявление отклонений головки, тела и других структурных частей сперматозоидов. Для этих целей проведены осмотические тесты. При наличии гипосмоса у живых сперматозоидов солевой раствор проходит через хвостовую мембрану и приводит к его скручиванию и набуханию. В нашей работе в условиях гипосмоса 150 мосм/кг, у сперматозоидов выявлены характерные изменения набухания хвостовой части.

В условиях гиперосмоса 510 мосм/кг у сперматозоида головка претерпевает основные изменения. Сморщивание акросомы характерно для мертвых сперматозоидов, у живых сперматозоидов акросома непроницаема.

При суправитальном окрашивании эозином и нигрозином живые сперматозоиды остались не окрашенными, мертвые приобрели розово-фиолетовый цвет. Цитогенетический тест с окраской хроматина показал конденсированность хроматин и отсутствие фрагментации ДНК.

Первичная смесь герминогенных и спермальных стволовых клеток семенников получена после ферментативной обработки и последующим разделением в градиенте плотности сахарозы. Морфоцитологическое исследование культуры клеток на первые сутки культивирования выявило значительное количество одиночных и групповых клеток округлой формы.

Обнаружены небольшие клетки с гиперхромными ядрами, и крупные клетки овальной формы, с более зернистой цитоплазмой и с наличием нескольких ядрышек. Более плотное и сформированное расположение клеток было отмечено на 7 день культивирования, где также наблюдалось митотическое деление клеток, что подтверждает выраженный генеративный и пролиферативный потенциал при культивировании герминогенных клеток.

После оттаивания криоконсервированного субстрата в инкубационной среде при добавлении ХГ содержание тестостерона по сравнению с исходным материалом составило  $4,1 \pm 4,8$  нмоль/103 клеток, мы сравнивали с данными до заморозки клеток,

которые были в значениях  $5,4 \pm 6,4$  нмоль/103 клеток. Полученные нами показатели говорят, что клетки не утратили способность синтезировать тестостерон и являются дееспособными.

**Клинический случай.** Больной Н., 1994 г.р., ИБ №9657. Госпитализирован в отделение урологии №4 с DS – Бесплодие. Азооспермия. Киста головки придатка левого яичка

Из анамнеза отсутствие детей в течение 5 лет. При проведении обследования спермограммы обнаружено азооспермия, пролактин повышен 823 мМЕ/л, ФСГ - 29 МЕ/л, ЛГ – 12,3 МЕ/л, значение тестостерона в пределах нормы – 20,1 нмоль/л. Данные ультразвукового исследования проявили кисту головки придатка левого яичка. Размеры яичек в норме и составляют в среднем 33x17 мм. Проведена пунктирно аспирация сперматозоидов из придатка и биопсия яичка, обнаруженные сперматозоиды и тестикулярная ткань криоконсервированы. После проведения процедуры вспомогательных репродуктивных технологий у супруги наступила одноплодная беременность, которая разрешилась в срок 39-40 недель путем кесарева сечения рождением нормального плода мужского пола весом 3350 грамм.

## Заключение

Из вышеизложенного свидетельствует, что сперматозоиды, полученные путем биопсии яичка и придатка, проявляют морфофункциональную целостность и мембранную стойкость в условиях криозаморозки. Герминогенные и спермальные стволовые клетки показали хорошие криорезистентные характеристики и после оттаивания проявили пролиферативную и стероидогенную активность. Целесообразно проводить множественную биопсию с захватом глубь лежащих тканей яичка, так как имеет место проявление локального сперматогенеза. Криоконсервация половых и герминогенных клеток полученных путем биопсии является оптимальным решением для сохранения и восстановления фертильности у мужчин.

**Жазуучулар ар кандай кызыкчылыктардын чыр жоктугун жарыялайт.**

**Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов. The authors declare no conflicts of interest.**

## Литература / References

1. Тер-Аванесов Г.В. Андрологические аспекты бесплодного брака. Москва. 2000. 76 с. [Ter-Avanesov G.V. Andrological aspects of infertile marriage. Moscow. 2000. 76 pp].
2. Абаралиев А. К., Чернецова Г. С., Райымбекова Г. К. Садырбеков. Н.Ж., Осмон Уулу А. Экспериментальное моделирование коррекции андрогенной дисфункции и пролиферативной активности у мужчин с азооспермией с применением криоконсервированной суспензии клеток интерстиция и спермальных стволовых клеток. Вестник КРСУ. 2022. 22(1):3-8 [Abaraliev A. K., Chernetsova G. S., Rayymbekova G. K. Sadyrbekov. N.Zh., Oskon Uulu .A. Experimental modeling of the correction of androgenic dysfunction and proliferative activity in men with azoospermia using a cryopreserved suspension of interstitium cells and sperm stem cells. Vestnik KRSU. 2022. 22(1):3-8 DOI 10.36979/1694-500X-2022-22-1-3-7. – EDNKRAPN W].
3. Gnoth C, Godehardt D, Godehardt E, Frank-Herrmann P, Freundl G. Time to pregnancy: results of the German prospective study and impact on the management of infertility. Hum Reprod. 2003 Sep;18(9):1959-66. doi: 10.1093/humrep/deg366. PMID: 12923157.
4. Menken J, Trussell J, Larsen U. Age and infertility. Science. 1986 Sep 26;233(4771):1389-94. doi: 10.1126/science.3755843. Erratum in: Science 1986 Oct 24;234(5775):413. PMID: 3755843.
5. Peng J, Zhang Z, Yuan Y, Cui W, Song W. Pregnancy and live birth rates after microsurgical vasopididymostomy for azoospermic patients with epididymal obstruction. Hum Reprod. 2017 Feb;32(2):284-289. doi: 10.1093/humrep/dew331. Epub 2017 Jan 5. PMID: 28057874.
6. Pierik FH, Van Ginneken AM, Dohle GR, Vreeburg JT, Weber RF. The advantages of standardized evaluation of male infertility. Int J Androl. 2000 Dec;23(6):340-6. doi: 10.1046/j.1365-2605.2000.00250.x. PMID: 11114979.
7. Povey AC, Clyma JA, McNamee R, Moore HD, Baillie H, Pacey AA, Cherry NM; Participating Centres of Chaps-uk. Modifiable and non-modifiable risk factors for poor semen quality: a case-referent study. Hum Reprod. 2012 Sep;27(9):2799-806. doi: 10.1093/humrep/des183. Epub 2012 Jun 12. PMID: 22695289.
8. Ricci E, Al Beitawi S, Cipriani S, Candiani M, Chiaffarino F, Viganò P, Noli S, Parazzini F. Semen quality and alcohol intake: a systematic review and meta-analysis. Reprod Biomed Online. 2017 Jan;34(1):38-47. doi: 10.1016/j.rbmo.2016.09.012. Epub 2016 Oct 18. PMID: 28029592.
9. Sermondade N, Faure C, Fezeu L. et al. BMI in relation to sperm count: an updated systematic review and collaborative meta-analysis. Hum Reprod Update. 2013 May-Jun;19(3):221-31. doi: 10.1093/humupd/dms050. Epub 2012 Dec 12. PMID:23242914; PMCID: PMC3621293.
10. Sonmeza M.G., Haliloglub A.H. Role of varicocele treatment in assisted reproductive technologies Arab J Urol. 2018 Feb 1;16(1):188-196. doi: 10.1016/j.aju.2018.01.002. PMID: 29713550; PMCID: PMC5922188.

11. Sharma R, Harlev A, Agarwal A et al. Cigarette Smoking and Semen Quality: A New Meta-analysis Examining the Effect of the 2010 World Health Organization Laboratory Methods for the Examination of Human Semen. *Eur Urol*. 2016 Oct;70(4):635-645. doi: 10.1016/j.eururo.2016.04.010. Epub 2016 Apr 21. PMID: 27113031.
12. Warne DW, Decosterd G, Okada H, Yano Y, Koide N, Howles CM. A combined analysis of data to identify predictive factors for spermatogenesis in men with hypogonadotropic hypogonadism treated with recombinant human follicle-stimulating hormone and human chorionic gonadotropin. *Fertil Steril*. 2009 Aug;92(2):594-604. doi: 10.1016/j.fertnstert.2008.07.1720. Epub 2008 Oct 18. PMID: 18930225.

**Авторы:**

**Абаралиев Акылбек Кудайназаровч**, Соискатель кафедры урологии Кыргызско-Российский Славянский университета им. Б. Н. Ельцина, Бишкек, Кыргызская Республика  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3234-4046>

**Чернецова Галина Степановна**, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой урологии Кыргызско-Российского Славянского университета им. Б. Н. Ельцина, Бишкек, Кыргызская Республика  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7322-473>

**Садырбеков Нурбек Женишбекович**, д.м.н., заведующий отделением общей урологии при Национальном госпитале МЗ КР Бишкек, Кыргызская Республика  
ORCID: <https://orcid.org/0000-003-4532-3770>

**Райымбекова Гульзат Кубанычбековна**, к.м.н., преподаватель Кыргызской государственной медицинской академии им. И. К. Ахунбаева, Бишкек, Кыргызская Республика  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6105-9685>

**Райымбеков Жаныбек Кубанычбекович**, врач эмбриолог Научно-исследовательского центра криомедицины и клеточных технологий НПК «Эльдос», Бишкек, Кыргызская Республика  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8557-5249>

**Authors:**

**Abaraliev Akylbek Kudainazarovch**, Applicant of the Department of Urology Kyrgyz-Russian Slavic University named after B. N. Yeltsin, Bishkek, Kyrgyz Republic  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3234-4046>

**Chernetsova Galina Stepanovna**, MD, Professor, Head of the Department of Urology, Kyrgyz-Russian Slavic University named after B. N. Yeltsin, Bishkek, Kyrgyz Republic  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7322-473>

**Sadyrbekov Nurbek Zhenishbekovich**, MD, Head of the Department of General Urology at the National Hospital of the Ministry of Health of the Kyrgyz Republic Bishkek, Kyrgyz Republic  
ORCID: <https://orcid.org/0000-003-4532-3770>

**Raiymbekova Gulzat Kubanychbekovna**, Ph.D., Lecturer of the Kyrgyz State Medical Academy named after I.K. Akhunbaev, Bishkek, Kyrgyz Republic  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6105-9685>

**Raiymbekov Zhanybek Kubanychbekovich**, Embryologist, Research Center for Cryomedicine and Cellular Technologies, NPK Eldos, Bishkek, Kyrgyz Republic  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8557-5249>

Поступила в редакцию 11.08.2022  
Принята к печати 18.09.2022

Received 11.08.2022  
Accepted 18.09.2022