

# Криоконсервирование единичных эпидидимальных и тестикулярных спермиев в микрообъеме

В.В. Подуфалий

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков  
3-я городская больница, г. Львов

## Cryopreservation of Single Epididymal and Testicular Spermatozoa in Microvolume

V.V. Podufaliy

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine  
City Hospital Nr. 3, Lviv, Ukraine

Широкое внедрение методики ICSI в клиническую эмбриологию позволило проводить оплодотворение единичными сперматозоидами пациентов с азооспермией после получения эпидидимальных и тестикулярных сперматозоидов [O. Hovatta, 1995]. В случае высокого риска повторного неполучения этого уникального генетического материала требуется криоконсервирование выделенных единичных сперматозоидов. Поэтому целью данной работы было изучение клинических параметров программы лечения бесплодия с применением криоконсервированных в микрообъеме эпидидимальных и тестикулярных спермиев.

**Материалы и методы.** Для криоконсервирования единичных сперматозоидов использовали микрокапилляры диаметром 120 мкм. Криоконсервирование осуществляли по двухэтапному методу [В.И. Грищенко, 2001]. Жизнеспособность сперматозоидов после размораживания оценивали по сохранению подвижности. В связи с азооспермией супруга у 58 супружеских пар была проведена программа ЭКО + ICSI с получением эпидидимальных спермиев, из них у 32 супружеских пар (группа 1) без криоконсервирования спермиев; у 26 – с применением криоконсервирования (группа 2).

**Результаты исследования.** Среднее количество спермиев в группах 1 и 2 составило  $178,9 \pm 16,2$  и  $171,2 \pm 18,6$ , количество активно-подвижных спермиев –  $12 \pm 0,8$  и  $8 \pm 0,8\%$  соответственно. Выживаемость спермиев после криоконсервирования составила  $92 \pm 8,8\%$ . Было оплодотворено 178 и 171 ооцитов на стадии МII, наличие пронуклеусов зарегистрировано в  $94,8 \pm 7,87$  и  $96,9 \pm 6,6\%$  клеток. Изучение морфологических характеристик эмбрионов на 5-е сутки культивирования показало высокую динамику дробления и качество эмбрионов: в группе 1 количество эмбрионов категории 3AA составило  $55,0 \pm 4,0$ , в группе 2 –  $68,5 \pm 5,5\%$ . Частота наступления беременности в группе с применением криоконсервированных спермиев составила 53,1, без криоконсервирования – 46,1%.

**Выводы.** Единичные эпидидимальные и тестикулярные сперматозоиды, несмотря на их незначительное количество и слабую подвижность, могут быть успешно криоконсервированы в микрообъемах, что дает возможность использовать их в лечении бесплодия методом ICSI.

Wide introduction of ICSI methods into clinical embryology practice allowed the fertilization with single spermatozoa of the patients with azoospermia after obtaining epididymal and testicular spermatozoa [O. Hovatta, 1995]. In the case if repeated obtaining of this unique genetic material is highly possible the cryopreservation of isolated single spermatozoa is needed. Therefore the aim of this investigation was to assess clinical parameters during infertility treatment protocols using epididymal and testicular spermatozoa cryopreserved in microvolume.

**Materials and methods.** For cryopreservation of single spermatozoa we used the capillaries of 120  $\mu\text{m}$  diameter. Cryopreservation was performed according to two-stage method [V.I. Grischenko, 2001]. Post-thaw viability of spermatozoa was assessed by motility preservation. In 58 couples the IVF + ICSI with obtaining epididymal spermatozoa was performed due to husband azoospermia, including 32 couples without cryopreservation of spermatozoa (group 1), and 26 couples with cryopreservation (group 2).

**Results.** Mean number of spermatozoa in the first and second groups made  $178.9 \pm 16.2$  and  $171.2 \pm 18.6$ . The number of actively motile spermatozoa was  $12 \pm 0.8$  and  $8 \pm 0.8\%$ , correspondingly. The post-thaw survival of spermatozoa made  $92 \pm 8.8\%$ . There were fertilized 178 and 171 oocytes at MII stage. The presence of pronuclei was found in  $94.8 \pm 7.87$  and  $96.9 \pm 6.6\%$  cells. Study of morphological characteristics of embryos to the 5<sup>th</sup> culturing day has shown a high dynamics of cleavage and the quality of embryos: in group 1 the number of embryos of 3AA category made  $55.0 \pm 4.0$  and in the second one it was  $68.5 \pm 5.5\%$ . Frequency of pregnancy onset in the group with applying cryopreserved spermatozoa made 53.1% and in the group without cryopreservation it made 46.1%.

**Conclusions.** Single epididymal and testicular spermatozoa in spite of their small number and low motility can be successfully cryopreserved in microvolumes, providing their further use when treating infertility with ICSI method.

