

Влияние аллотрансплантации криоконсервированных тканей фетоплацентарного комплекса на эндокринный статус мужчин с олигозооспермией

В.И. Грищенко¹, А.Г. Геродес¹, В.А. Керос¹, Е.К. Алипова², Л.И. Луцкая¹, Г.Г. Юрченко¹

¹Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

²Центр репродукции человека "Имплант", г. Харьков

Allotransplantation Effect of Fetoplacental Complex Cryopreserved Tissues on Endocrine Status of Men with Oligozoospermia

GRISCHENKO V.I.¹, GERODES A.G.¹, KEROS V.A.¹, ALIPOVA E.K.², LUTSKAYA L.I.¹, YURCHENKO G.G.¹

¹Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of the Ukraine, Kharkov

²"Implant", Center for Human Reproduction, Kharkov

Исследовано влияние аллотрансплантации криоконсервированной плацентарной ткани и криоконсервированной фетотестикулярной ткани на продукцию гонадотропных гормонов и сперматогенез мужчин с олигозооспермией. У пациентов после трансплантации тканей фетоплацентарного комплекса были обнаружены достоверное увеличение в сыворотке крови уровня тестостерона, нормализация уровней фолликулостимулирующих гормонов (ФСГ) и лютеинизирующих гормонов (ЛГ), а также увеличение андрогенов в соотношении эстрадиол тестостерон. При исследовании эякулята отмечались увеличение концентрации спермиев в образце спермы и их кинетической активности, снижение количества патологических форм. После проведенной терапии у всех пациентов усиливалось либидо, повышалась работоспособность, улучшалось общее самочувствие, снижались утомляемость и заболеваемость простудными заболеваниями. Использование аллотрансплантации криоконсервированных тканей фетоплацентарного комплекса как метода лечения перспективно в комплексной терапии патологий мужской половой системы.

Ключевые слова: аллотрансплантация, криоконсервирование, плацентарная ткань, фетотестикулярная ткань, гормоны, мужская половая система, сперматогенез.

Досліджено вплив алотрансплантації криоконсервованих плацентарної і фетотестикулярної тканин на продукцію гонадотропних гормонів і сперматогенез чоловіків з олигозооспермією. У пацієнтів після трансплантації тканин фетоплацентарного комплексу було виявлено достовірне збільшення в сироватці крові рівня тестостерону, нормалізацію рівнів фолікулостимулюючих і лютеїнізуючих гормонів, а також зміну співвідношення естрадіол-тестостерон у бік збільшення андрогенів. При дослідженні еякуляту відзначалось достовірне збільшення концентрації спермій, їх кінетичної активності, зниження кількості патологічних форм. Усі пацієнти після проведеної терапії відзначали посилення лібідо, підвищення працездатності, покращення загального самопочуття, зниження стомлюваності і захворюваності простудними хворобами. Використання алотрансплантації криоконсервованих тканин фетоплацентарного комплексу як метода лікування є перспективним в комплексній терапії патологій чоловічої статеві системи.

Ключові слова: алотрансплантація, криоконсервування, плацентарна тканина, фетотестикулярна тканина, гормони, чоловіча статеві система, сперматогенез.

There has been studied the effect of cryopreserved placental and fetotesticular tissue allotransplantation on the production of gonadotropic hormones and spermatogenesis in patients with oligozoospermia. Following fetoplacental tissue transplantation there was found a significant increase of testosterone level in blood serum, normalization of FSH and LH levels, as well as the change in the estradiol-testosterone ratio towards the androgen rise. When testing ejaculate there was noted a considerable augmentation of spermatozoa concentration, kinetic activity of those, fall of the amount of pathological forms. After the therapy performed all the patients noted libido increase, work efficiency rise, better feeling, fatigability reduction and cold disease rate. Application of cryopreserved fetoplacental tissue transplantation as a treatment method is of perspective in a combined therapy of sexual system pathologies in men.

Key words: allotransplantation, cryopreservation, placental and fetotesticular tissue, hormones, sexual system in men, spermatogenesis.

Выяснение причин снижения функции репродуктивной системы человека, в частности сперматогенеза, является актуальной задачей совре-

Revealing the causes of the decrease in human reproductive system function, in particular, spermatogenesis, is a current task for an up-to-date

Адрес для корреспонденции: Геродес А.Г. Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, ул. Переяславская, 23, г. Харьков, Украина 61015; тел.: +38 (057) 772-11-19, факс: +38 (057) 772-00-84, e-mail: cryo@online.kharkov.ua

Address for correspondence: Gerodes A.G. Institute for Problems of Cryobiology & Cryomedicine of the Nat. Acad. Sci. of Ukraine, 23, Pereyaslavska str., Kharkov, Ukraine 61015; tel.: +38 (057) 7721119, fax: +38 (057) 7720084, e-mail: cryo@online.kharkov.ua

менной репродуктологии и андрологии. Одна из причин этой патологии – понижение андрогенной активности гонад, обусловленное изменением функции центрального или периферического звена гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы. Действие неблагоприятных производственных и экологических факторов [2], стрессы [11], хронические воспалительные процессы мочеполовой сферы у мужчин [9] также приводят к нарушению функций половых желез, снижению продукции половых клеток у половозрелых мужчин при нормально сформированных функционирующих гонадах и нормальном телосложении [10]. При первичном поражении гонад в крови таких пациентов снижается уровень тестостерона, при этом уровень других гонадотропных гормонов остается в пределах нормы или повышается [10]. Изменяется соотношение эстрогены/андрогены в сыворотке крови в сторону превалирования эстрогенов (в норме 1:100), что приводит к ряду нарушений в системе гипоталамус-гипофиз-гонады и снижению сперматогенеза. Исследование спермы выявляет олигозооспермию (ОЗС), низкую подвижность и жизнеспособность спермиев.

Стандартное лечение заключается в дополнительном введении андрогенов для ликвидации тестикулярной недостаточности [10]. Одним из методов коррекции андрогендефицитных состояний и связанных с ним нарушений в системе репродукции у мужчин является трансплантация тканей фетоплацентарного комплекса (ТТФПК), в частности плацентарной ткани и ткани семенников плодов человека, которые содержат большое количество гормонов, простагландинов, ферментов и микроэлементов. Основной целью применения транс-плантации фетотестикулярной ткани человека (ТФТТЧ) является восполнение недостающего мужского полового гормона в организме пациента и восстановление связанных с этим нарушений сперматогенеза [3]. Ткань плаценты оказывает полифармакологическое действие, обусловленное ее биохимическим составом [1].

Однако влияние трансплантации криоконсервированной плацентарной ткани (ТКПТ) и ТФТТЧ на продукцию сперматозоидов, уровни гонадотропных гормонов в сыворотке крови в организме мужчин с нарушением репродуктивной функции изучены недостаточно.

Цель работы – исследование влияния ТТФПК на показатели сперматогенеза (исследование эякулята), содержание гонадотропных гормонов в сыворотке крови мужчин с ОЗС.

Материалы и методы

Обследуемые мужчины были разделены на две группы в зависимости от показателей спермограммы, уровня гонадотропных гормонов в сы-

реproductology and andrology. One of this pathology causes of is the reduction gonade androgen activity stipulated by the change of central and peripheric link of hypothalamo-hypophysis-gonade system. Effects of unfavorable factors and ecological system [2], stresses [11], chronic inflammatory processes of urogenital sphere in males [9] also result in the impairment of sexual glands' function, decrease of sex cells production in mature men with normally formed functioning gonades and those normally-built [10].

Under initial damage of gonades the testosterone level decreases in blood of such patients, and the level of other gonadotropic hormones remains within the norm or increases [10]. The estrogen/androgen ratio in blood serum changes to estrogen predominance (1:100 in the norm), that results in a series of impairments in hypothalamus-hypophysis-gonades system and spermatogenesis reduction. Investigation of oligozoospermia (OZS) has revealed a low motility and viability of spermatozoa.

Standard treatment means an additional androgen introduction to achieve the liquidation of testicular failure. One of the method for androgen-deficient state correction and for the related impairments in men's reproductive system is tissue transplantation of fetoplacental complex (TTFPC), in particular, of human fetal placenta and testes tissues, comprising a large number of hormones, prostaglandines, enzymes and microelements. A major purpose for the application of human fetotesticular tissue transplantation (HFTTT) is the replacement of missing male sex hormone in a patient's organism and recovery of related spermatogenesis impairments [3]. Placenta tissue manifests a polymorphological effect stipulated by its biochemical content [1].

However the effect of cryopreserved placenta tissue transplantation (CPTT) and HFTTT on spermatozoa production, the levels of gonadotropic hormones in blood serum of men with a reproductive function failure have been insufficiently studied.

The aim of the present work is studying the TTFPC effect on spermatogenesis indices (ejaculate test), the content of gonadotropic hormones in blood serum of OZS men.

Materials and methods

The patients under study were divided into 2 groups depending upon the spermogram indices and the level of gonadotropic hormones in blood serum. The first group was composed of the patients with spermogram indices of 9.1 ± 4.0 mln/ml, among them $16.8 \pm 8.0\%$ with a progressive movement and $15-20\%$ with a normal morphology. Testosterone content in blood serum is 7.0 ± 1.26 nmol/ml (the norm is 12-38 nmol/ml), FSH, LH and estradiol levels were within the norm. Estradiol/testosterone

воротке крови. Первую группу составили пациенты с показателями спермограммы $9,1 \pm 4,0$ млн/мл, из них $16,8 \pm 8,0\%$ с поступательным движением и $15-20\%$ с нормальной морфологией. Содержание тестостерона в сыворотке крови – $7,0 \pm 1,26$ нмоль/мл (норма $12-38$ нмоль/мл), уровни ФСГ, ЛГ и эстрадиола были в пределах нормы. Соотношение эстрадиол/тестостерон $1:24$. Вторую группу составили мужчины с концентрацией спермиев $16,2 \pm 5,1$ млн/мл, $16,6 \pm 2,77\%$ с поступательным движением и $25-30\%$ нормальных форм, концентрацией тестостерона на уровне нижней границы нормы и высокими уровнями эстрадиола, с ФСГ, ЛГ в сыворотке крови. Соотношение эстрадиол/тестостерон $1:28$.

Мужчинам первой клинической группы была проведена подкожная трансплантация криоконсервированной ткани семенников плодов мужского пола, мужчинам второй – подкожная трансплантация фрагмента КПТ.

Тестисы плодов, полученные в результате прерывания беременности (16-20 недель гестации) по социальным и медицинским показаниям в условиях гинекологического стационара, были криоконсервированы по методике [6]. Экспозиция фетотестикулярной ткани в течение 15-30 мин в среде, содержащей 5% ДМСО, с последующим ступенчатым замораживанием в нашей модификации с помощью метода дифференциальной тензодилатометрии [6] и размораживанием ФТТЧ на водяной бане при температуре $37-40^\circ\text{C}$ сохраняет специфические функции криоконсервированной ткани яичка человека [7,11].

После размораживания тестисы, погруженные в амниотическую оболочку (первая группа) или фрагменты плацентарной ткани (вторая группа), под инфильтрационной анестезией 2%-м раствором новокаина были трансплантированы в подкожно-жировую клетчатку в верхне-наружный квадрат ягодицы, после чего на кожу накладывали кетгут-овые швы.

Эякуляты мужчин исследовали методами стандартного уровня ВОЗ (рекомендации ВОЗ, 1997), содержание половых гормонов в сыворотке крови – методом трехфазного иммуноферментного анализа.

Результаты и обсуждение

У пациентов первой группы после ФТТЧ было обнаружено достоверное увеличение уровня тестостерона в сыворотке крови, начиная с первой недели после проведения операции.

Максимальные значения тестостерона были определены через месяц после трансплантации с сохранением до двух месяцев (время наблюдения). Соотношение эстрадиол/тестостерон прогрессивно уменьшалось, что соответственно положительно отразилось на состоянии сперматогенеза.

ratio was $1:24$. The second group was made of men with spermatozoa concentration of 16.2 ± 5.1 mln/ml, $16.6 \pm 2.77\%$ with a progressive movement and $25-30\%$ of normal shapes, testosterone concentration at the level of low limit of the norm and high estradiol levels with FSH, LH in blood serum. Estradiol/testosterone ratio made $1:28$.

The first clinical group patients were subcutaneously transplanted with cryopreserved fetal testes tissue, the men of the second group obtained a subcutaneous transplantation of CPT fragment.

Fetal testes procured as a result of pregnancy termination (16-20 weeks) as a result of social and medical indications under the conditions of gynecological hospital, were cryopreserved according to the method [6]. Fetotesticular tissue exposure within 15-30 min under the medium comprising 5% DMSO with further step-wise freezing (in our modification) according to differential tensodilatometry method [6] and HFTT thawing in water bath under the temperature of $37-40^\circ\text{C}$ has kept the specific functions of cryopreserved human fetal testes tissue [7, 11].

Following thawing the testes, immersed in amniotic membrane (the 1st group) and placental tissue fragments (the second group) under 2% novocaine infiltration anesthesia were transplanted into subcutaneous fat into outer upper buttock quadrant, then catgut sutures were put onto the skin.

Ejaculates were tested by the WHO methods (WHO recommendations, 1997), sexual hormones content in blood serum was evaluated by the method of 3-phase immune-enzyme analysis.

Results and discussion

In 1st group patients following HFTTT there was noted a significant increase of testosterone level in blood serum, starting from the first week after the operation.

The maximum testosterone values were determined in a month following the transplantation up to two months (follow-up period). Estradiol/testosterone ratio decreased progressively, positively affecting the spermatogenesis state. Gametes concentration and motility in an ejaculate increased in the proportion to the decrease of estradiol/testosterone ratio and to the rise of testosterone concentration in blood serum. Testosterone level in blood serum of the group 2 patients corresponded to normal indices in two weeks following the transplantation and have remained within 2 months (follow-up period).

To the second week the levels of FSH and LH have already decreased to normal indices in response to CPTT, concentration of those hormones had remained within the norm during the entire follow-up period.

Динамика изменения уровня гонадотропных гормонов в сыворотке крови
и параметров спермограмм у мужчин с ОЗС после ТТФПК
Dynamics of gonadotropic hormones level in blood serum and spermogram parameters in OZS
patients following FPTT

Исследуемые показатели Studied parameters	Исходные показатели (контроль) Initial indices (control)	Время наблюдения после ТТФПК Observation time after FPTT		
		2 нед 2 weeks	1 мес 1 month	2 мес 2 month
ФСГ (норма <10,5 МЕ/мл) 1-я группа 2-я группа FSH (norm<10.5 IU/ml) Group 1 Group 2	4,6±1,2 19,25±2,1	3,5±0,8 8,2±1,57*	4,5±0,6 9,1±1,2*	4,5±0,7 7,5±1,54*
ЛГ (норма < 10,5 МЕ/мл) 1-я группа 2-я группа LH (norm<10.5 IU/ml) Group 1 Group 2	3,2±0,9 15,7±3,1	2,8±0,9 8,63±1,01*	3,8±0,7 7,3±2,3	4,5±0,6 6,9±0,24
Эстрадиол (норма < 0,3 нмоль/л) 1-я группа 2-я группа Estradiol (norm<0.3 IU/ml) Group 1 Group 2	0,3±0,02 0,4±0,3	0,3±0,1 0,3±0,14	0,26±0,12 0,24±0,1	0,2±0,1 0,2±0,01
Тестостерон (норма 12–38 нмоль/л) 1-я группа 2-я группа Testosterone (12–38 nMol/norm) Group 1 Group 2	7,0±1,26 11,3±2,5	10,6±1,9 18,8±1,2*	15,1±2,5* 22,4±5,1*	15,0±2,3* 19,7±2,3*
Эстрадиол/тестостерон 1-я группа 2-я группа Estradiol/testosterone Group 1 Group 2	1:24 1: 28	1: 36 1:63	1:58 1:93	1:75 1:98
Концентрация сперматозоидов (норма 20 млн/мл) 1-я группа 2-я группа Spermatozoa concentration (norm 20mln/ml) Group 1 Group 2	9,1±4,0 16,2±5,1	10,2±2,3 21,5±3,8*	14,8±6,2 18,1±2,45	25,6±6,2* 28,8±2,34*
Спермии с поступательным движением (подвижные) (норма 50%) 1-я группа 2-я группа Spermatozoa with a progressive movement (motile)(norm 50%) Group 1 Group 2	16,8±8,0 16,6±2,77	19,1±3,2 23,3±3,6*	37,7±9,4* 29,27±7,69*	48,9±7,7* 52,7±3,4*

Примечание: *P<0,05 по отношению к контролю.

Notes: *P<0.05 in respect of the control.

Концентрация и подвижность гамет в эякуляте возрастали прямо пропорционально уменьшению соотношения эстрадиол/тестостерон и возрастанию концентрации тестостерона в сыворотке крови. Уровень тестостерона в сыворотке крови пациентов второй группы через две недели после проведения трансплантации соответствовал нормальным показателям и сохранялся на протяжении 2-х месяцев (время наблюдения). В ответ на ТКПТ уже на 2-й неделе снижались уровни ФСГ и ЛГ до нормальных показателей, концентрация этих

Estradiol level has already decreased to normal indices in two weeks after CPTT, and the estradiol/testosterone ratio was nearly equal to the estrogen/androgen ratio in healthy men blood (1:98) in 2 months following the transplantation. In this case in patients of both clinical groups ejaculate volume increased, spermatozoa, kinetic activity of those and concentration significantly rose starting from the second week following FPCTT. The most positive effect was noted in two months after the operation. Following HFTTT there was noted the

гормонов оставалась на уровне нормы на протяжении всего времени наблюдения.

Уровень эстрадиола снизился до показателей нормы уже через 2 недели после ТКПТ, а соотношение эстрадиол/тестостерон через 2 мес после трансплантации практически соответствовал соотношению эстрогенов/андрогенов в крови здоровых мужчин (1:98). При этом у пациентов обеих клинических групп увеличивался объем эякулята, достоверно возрастала концентрация спермиев, их кинетическая активность, начиная со 2-й недели после ТТФПК. Наиболее явный положительный эффект наблюдался через 2 мес после операции. После ТФТТЧ прослеживалась тенденция к уменьшению процента патологически измененных форм гамет в эякуляте. Все пациенты после проведенной терапии отмечали усиление либидо, оживление спонтанных и адекватных эрекции, повышение работоспособности, улучшение общего самочувствия, снижение утомляемости и заболеваемости простудными заболеваниями.

В настоящее время у одной пациентки из 7 супружеских пар, мужьям которых проведена ТФТТЧ, получена беременность. Во второй группе беременность наступила у двух пациенток, мужья которых проходили лечение методом ТКПТ.

В андрологической практике разработаны методы лечения мужского секреторного бесплодия, нарушения половой функции, мужского гипогонадизма с использованием клеточных гомогенатов, лиолизатов яичек, экстрактов тестикул животных [9], культуры клеток Лейдига и тестикулярной ткани [8]. По мнению авторов [3, 8, 9], трансплантированные семенники в значительной мере стимулируют и частично компенсируют утраченную или уменьшенную эндокринную функцию яичка, способствуют нормализации деятельности нейроэндокринной системы в целом. Примененные с этой целью тестисы плодов имеют ряд преимуществ перед тканью половых желез взрослого мужчины, характерных для фетальных тканей вообще. Они являются более стойкими к ишемии, имеют большую пластичность структурных элементов, высокую пролиферативную активность, содержат большое количество биологически активных веществ и ростовых факторов. Кроме того, при гестации 16-20 недель в семенниках плодов отмечается наибольшее количество андрогенпродуцирующих клеток Лейдига [4, 6].

Плацента является полифункциональной железой внутренней секреции, в которой осуществляются процессы синтеза, секреции и превращения гормонов и биологически активных веществ. Имплантация ткани плаценты как метаболически-активной субстанции натурального происхождения, очевидно, способствует коррекции биологического

tendency to the percentage reduction of pathologically altered gamete shapes in ejaculate. After the therapy performed all the patients had noted the libido increase, reviving of spontaneous and adequate erection, work efficiency rise, better feeling, fatigability reduction and cold disease rate.

Nowadays one woman got pregnant of 7 couples following HFTTT performed to their husbands. In the second group the pregnancy was achieved in two women, husbands of those had been treated with CPTT.

In an andrology practice there have been elaborated the methods to treat secretory infertility in men, sexual functions disorders, hypogonadism by using cellular homogenates, testes lyolysates, extracts of animals' testes [9], Leydig cell culture and testicular tissue [8]. According to the point of view of different authors [3, 8, 9], the transplanted testes significantly stimulate and partially compensate the lost or decreased testes endocrine function, promote the normalization of entire neuroendocrine system.

Applied with this aim fetal testes have the series of advantages if compared with sex gland tissue of adult men, those are characteristic generally for fetal tissues. They are known to be resistant to ischemia, have higher plasticity of structural elements, high proliferative activity, have a huge amount of biologically active substances and growth factors. In addition, at 16-20 gestation weeks in fetal testes there is noted the highest content of androgen-producing Leydig cells [4, 6]

Placenta is a polyfunctional inner secretion gland, where the processes of synthesis, secretion and transformation of hormones and biologically active processes occur. Placental tissue implantation as a metabolically active substance of natural origin, is probably promoting the correction of the patient organism's biological status, and manifests a polymorphological effect of specific and non-specific action.

Conclusions

Transplantation of cryopreserved fetotesticular tissue in amniotic membrane to the patients with androgen-deficient states promotes a gradual increase of the level of men's sexual hormone in blood serum and possesses a stimulating effect on testes spermatogenic function. There was revealed a positive effect of CPTT, as well as FSH and LH levels' decrease to normal values in blood serum of the patients.

Thus, we may conclude the perspectiveness of FPCTT use as the treatment method in a complex therapy of endocrine failures during sexual system pathology in men.

статуса организма пациента и оказывает полифармакологический эффект специфического и неспецифического действия.

Выводы

Трансплантация криоконсервированной фетотестикулярной ткани в амниотической оболочке лицам мужского пола с андрогендефицитными состояниями способствует постепенному подъему уровня мужского полового гормона сыворотки крови и обладает стимулирующим влиянием на сперматогенную функцию яичек. Обнаружено положительное влияние ТКПТ на сперматогенез мужчин с ОЗС, а также снижение до нормальных величин уровней ФСГ и ЛГ в сыворотке крови пациентов.

Таким образом, можно сделать заключение о перспективности использования ТТФПК как метода лечения в комплексной терапии эндокринных нарушений при патологии мужской половой системы.

Литература

1. Грищенко В.И., Керос В.А. Изучение процесса замораживания-оттаивания 5%-го и 10%-го растворов диметилсульфоксида на среде Хенкса методом тензодилатометрии // Вісник ХДУ. №422. Біофіз. вісник.– 1998.– Вип.2.– С. 93-95.
2. Грищенко В.І., Керос В.А., Бондаренко В.О. Криоконсервування та клінічне застосування фрагментів фетотестикулярної тканини після криоконсервування: Метод. рекомендації.– Харків, 1999.– 10 с.
3. Грищенко В.И., Керос В.А., Бондаренко В.А. Влияние трансплантации криоконсервированной фетотестикулярной ткани человека на функциональное состояние репродуктивной системы при некоторых формах мужского бесплодия // Пробл. криобиологии.– 1999.– №4.– С. 73-76.
4. Грищенко В.И., Керос В.А. Жизнеспособность фетотестикулярной ткани человека после криоконсервирования // Эндокринология.– 1999.– Т.4.– №2.– С. 222.
5. Грищенко В.І., Геродес А.Г., Юрченко Г.Г., Крамар М.Й. Підвищення фертильності сперми чоловіків з порушенням сперматогенезу, що виникли під впливом дії шкідливих зовнішніх факторів // Андрология. Сексология.– 2002.– № 6. – С. 264-268.
6. Керос В.А., Грищенко В.И., Лобынцева Г.С., Вотякова И.А. Исследование функциональной активности криоконсервированной фетотестикулярной ткани плодов человека // Сексология и андрология. Вып. 4/ Под ред. И.И. Горпинченко.–Киев, 1998.– С. 95
7. Кирпатовский И.Д., Горбатюк Д.Л. Трансплантация неполовозрелого аллогенного яичка // Хирургия.– 1990.– №6.– С. 103 – 106.
8. Кобяков С.А., Лужицкий Е. В., Турчин І.С. та ін. Досвід ксенотрансплантації органної культури сім'яників чоловікам із порушенням статевої функції // Сб. науч. трудов симпозиума с международным участием 27-28 мая 1999 г.– Киев, 1999.– С. 102-106.
9. Справочник по клинической эндокринологии/ Под ред. Е.А. Холодовой.– Минск, 1996.– 510 с.
10. Юрченко Г.Г., Исаченко Е.Ф., Крамар М.И., Геродес А.Г. Влияние стрессовых ситуаций на качество спермы человека // Бесплодие: Вспомогательные репродуктивные технологии // Сб. науч. трудов симпозиума с международным участием.– Киев, 1995. – С. 186 - 189.
11. Пат. 45493А Україна МПК⁷ А61К 35/50. Спосіб корекції порушень сперматогенезу у чоловіків / В.І. Грищенко, Г.Г. Геродес, О.К. Аліпова, О.С. Прокопюк. Заявлено 25.07.01. Опубл. 15.05.02. Бюл. №5.

Поступила 11.11.2002

References

1. Grischenko V.I., Keros V.A. Studying of freeze-thawing process for 5 and 10% DMSO solutions in Hanks' medium by tensodilatometry//Visnyk Khark.Derzh.Univ., N422. Biophys. Bulletin.– 1988, N2.– P. 93-95.
2. Grischenko V.I., Keros V.A., Bondarenko V.A. Cryopreservation and clinical application of fetotesticular tissue fragments following cryopreservation: Method. Recommendations.– Kharkov, 1999.– 10p.
3. Grischenko V.I., Keros V.A., Bondarenko V.A. Effect of cryopreserved human fetotesticular tissue transplantation on functional state of reproductive system at some male infertility forms // Problems of Cryobiology.– 1999.– N4.– P. 73-76.
4. Grischenko V.I., Keros V.A. Viability of human fetotesticular tissue following cryopreservation // Endocrinology.– 1999.– Vol.4.– N2.– P. 222.
5. Grischenko V.I., Gerodes A.G., Yurchenko G.G., Kramar M.J. Rising the human sperm fertility in patients with spermatogenesis failures, appeared under the effect of unfavorable environmental factors // Andrology. Sexology.– 2002.– N6.– P. 264-268.
6. Keros V.A., Grischenko V.I., Lobyntseva G.S., Votyakova I.A. Functional activity studying of cryopreserved fetotesticular tissue derived from human fetuses // Sexology and Andrology.– Issue 4/ Ed. by Gorpinchenko I.I.– Kiev.– 1998.– P. 95.
7. Kirpatovsky I.D., Gorbatyuk D.L. Transplantation of immature allogeneic testes// Khirurgiya.– 1990.– N6.– P. 103-106.
8. Kobayakov S.A., Luzhytsky E.V., Turchin I.S. et al. An experience of xenotransplantation of testes organ culture to the patients with sexual function failures // Collection of works. Symposium with international participation. May 27-28th, 1999.– Kiev, 1999.– P. 102-106.
9. Reference book on clinical endocrinology / Ed. by Kholodova E.A.– Minsk, 1996.– 510 p.
10. Yurchenko G.G., Isachenko E.F., Kramar M.I., Gerodes A.G. Effect of stress situations on human sperm quality. Infertility: Additional reproductive technologies // Reference book of the symposium with international participation.– Kiev, 1995.– P. 186-189.
11. Patent of Ukraine, N45493A, МПК А61К 35/50. The methods for spermatogenesis correction in human being / Grischenko V.I., Gerodes A.A., Alipova E.K., Prokopyuk O.S. Accepted in 25.07.01, Issued in 15.05.2002, Bul. N5.

Accepted in 11.11.2002