

of the female sexual sphere, level of endocrine violations, infertility is high.

Unfortunately, very often behind all this there are inefficient methods of contraception or their total absence leading to growth of number of abortions which make an adverse effect on an organism of the woman. The exit from this situation consists in use of effective and safe methods of protection from undesirable pregnancy.

The modern is application of local contraceptives (negormonalny) in the form of soft, firm medicinal forms, and

also aerosols. Priimushchestva of these preparations that they practically carry out function both barrier, and spermitsidny (chemical).

We developed the new combined medicine in the form of the foamy aerosol, containing antimicrobial substances (metronidazole, хиназол, milk acid) with spermitsidny activity.

Studying of spermitsidny effect of medicine carried out in the vivo method on girlfriends of breed the Chinchilla.

Key words: Foamy aerosol, mobility, viability of spermatozoa, head, neck, tail.

УРОЛОГИЯ И НЕФРОЛОГИЯ

УДК 616.682-002-089.819.843

М.К. АЛЧИНБАЕВ, У.Ш. МЕДЕУБЕКОВ, С.М. КУСЫМЖАНОВ,
А.К. БУЙРАШЕВ, Б.Г. ТОКТАБАЯНОВ

Научный центр урологии им. Б.У. Джарбусынова, г. Алматы

РЕЗУЛЬТАТЫ АЛЛОТРАНСПЛАНТАЦИИ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПРИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОМ ОРХОЭПИДИДИМИТЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Объектом исследования являются экспериментальные животные (15 лабораторных кроликов мужского пола). В процессе работы всем животным проводили ультразвуковое исследование органов мошонки, ультразвуковое доплерографическое исследование сосудов органов мошонки, гистоморфологическое исследование биоптатов из органов мошонки. После гистоморфологического подтверждения наличия хронического орхоэпидидимита производили забор костного мозга у лабораторных животных из правого гребня крыла подвздошной кости, который вводили в несколько точек паренхимы яичка, имеющих достоверные признаки хронического неспецифического орхоэпидидимита.

Ключевые слова: орхоэпидидимит, стволовые клетки, ультразвуковое исследование, гистоморфологическое исследование.

Острое воспаление яичка и придатка (орхоэпидидимит) является одним из наиболее частых урологических заболеваний. Более 27% мужчин на протяжении жизни переносят эпидидимоорхит [1]. Как осложнение после различных перенесенных инфекционных заболеваний, эпидидимит и эпидидимоорхит встречаются по данным различных авторов с частотой от 6,3 до 18% случаев [2]. Среди острых воспалительных заболеваний мочеполовых органов острый эпидидимоорхит и эпидидимит занимают первое место по частоте. Уже эти статистические данные о частоте заболевания свидетельствуют об актуальности его изучения с различных точек зрения: патогенетической, диагностической, лечебной, профилактической.

Переход острого орхоэпидидимита в хронический чреват многими последствиями, среди которых наиболее серьезные нарушения проводимости придатка яичка, развитие склеротического и дистрофического процессов в яичке, что приводит к нарушению репродуктивной функции этих органов на стороне поражения. При двустороннем поражении, что бывает особенно часто при орхоэпидидимите как следствии хронического простатита, т.е. наличии исходного очага инфекции в предстательной железе, как правило, наступает аспермия [1, 2].

Несмотря на частоту и тяжесть течения орхоэпидидимита и его осложнений, многие аспекты его патогенеза, диагностики, лечения и профилактики остаются недостаточно изученными.

Цель работы – изучение регенераторных возможностей ткани яичка после трансплантации недифференцированных стволовых клеток в паренхиму половых желез экспериментальных животных при хроническом

неспецифическом орхоэпидидимите с нарушением репродуктивных функций.

Материал и методы

В эксперименте использованы беспородные кролики (самцы) массой 4-5 кг в количестве 60 животных.

Животных в начале эксперимента содержали на карантине в течение 20 суток для исключения инфекционных заболеваний. Животные содержались в одинаковых условиях обычного виварного режима при смешанном освещении. Кормление производили 2 раза в день в соответствии с установленными нормами, обеспечение водой не ограничивали.

Для моделирования хронического неспецифического орхоэпидидимита использовалась бактериальная культура – стафилококк + стрептококк в титре 10^6 .

Исследуемой группе, после предварительной обработки 70% спиртовым раствором хлоргексидина, производили инъекции бактериальной культуры инсулиновым шприцем по 0,2 мл на глубину 3 мм в каждую половую железу.

В исследовании использовали следующие лекарственные средства, растворы и реактивы: 1) Раствор Хенкса СТ ТОО 980340000548-016-2010; 2) Питательная среда Mesencult – Lot: 12BU3016; 3) Диметилсульфоксид ГОСТ/ТУ: ТУ 2635-114-44493179-08; 4) Гепарин РК-ЛС-5-№003295; 5) Лизирующий раствор ГОСТ Р89002; 6) Этиловый спирт ГОСТ 17299-78; 7) Цефазолин ГОСТ 52249-2009.

Выделение мононуклеарных клеток костного мозга. Все манипуляции с животными проводили под наркозом с применением 2% раствора рометара и 2,5% аминазина по 0,3 см³. Для обезболивания внутрикостно вводили 0,5 см³ лидокаина гидрохлорида. Аспират костного мозга лабо-

раторных животных и человека получали методом многократных проколов гребня подвздошной кости буферным раствором с последующей вытяжкой костно-мозговой взвеси. Забор костного мозга у кроликов производили из правого гребня крыла подвздошной кости с помощью иглы 16G. Иглу вводили вдоль костной пластины вовнутрь губчатой ткани. В кость вводили 1-1,5 см³ раствора Хенкса с гепарином и аспирировали костный мозг.

Аспират костного мозга представлял собой смесь гемопоэтических и мезенхимальных стволовых клеток костного мозга и клеток периферической крови. Для получения культур клеток использовали методы обработки аспирата костного мозга лизирующим раствором. Аспират костного мозга равномерно смешивали с охлажденным до 2-40°С лизирующим раствором в соотношении 1:10. Продолжительность обработки 10-15 мин. Затем суспензию клеток центрифугировали при 1200 об/мин в течение 10 мин. Гемолизированную надосадочную жидкость сливали, а осадок ресуспендировали питательной средой «Mesencult».

Определение ядродержащих клеток и жизнеспособных клеток костного мозга после сепарации. Для проведения дальнейших манипуляций с костным мозгом (проведения заморозки или культивирования) проводили количественный учет ядродержащих клеток и определяли процент живых клеток в суспензии. Для количественного учета ядродержащих клеток использовали автоматический гематологический анализатор, на котором определяли концентрацию ядродержащих клеток, мононуклеары, гранулоциты, концентрацию эритроцитов и уровень гемоглобина костного мозга до и после сепарации. При отсутствии автоматического гематологического анализатора использовали камеру Горяева и раствор Тюрка. К 0,2 мл суспензии клеток после сепарации добавляли 1,8 мл раствора Тюрка, который представлял собой 3% раствор уксусной кислоты, окрашенный метиленовым синим. Содержимое пробирки тщательно перемешивали, оставляли на 3-5 минут. Затем 0,2 мл суспензии переносили в подготовленную камеру Горяева. Ждали 2 мин для осаждения клеток и производили количественный учет окрашенных клеток в 20 больших квадратах сетки. Подсчитывали в 4 сетках, затем находили среднее значение. Для определения концентрации клеток в 1 см³ полученное значение перемножали на коэффициент разведения и 2200. Полученное число показывало концентрацию клеток в 1 см³. Необходимо отметить, что этот метод позволял определить концентрацию ядродержащих клеток, но не определял мононуклеары и гранулоциты.

Для определения концентрации жизнеспособных клеток в суспензии клеток после сепарации использовали камеру Горяева и 0,5% раствор трипанового синего. К 0,2 мл суспензии клеток после сепарации добавляли 1,8 мл 0,5% раствора трипанового синего. Содержимое пробирки тщательно перемешивали, оставляли на 3-5 минут. Затем 0,2 мл суспензии переносили в подготовленную камеру Горяева. Ждали 2 мин для осаждения клеток и производили количественный учет окрашенных клеток в 20 больших квадратах сетки. Окрашенные клетки считали мертвыми клетками. Живые клетки не окрашивались трипановым синим, т.к. у них целая мембрана и они не поглощали краску. Подсчитывали в 4 сетках живые и мертвые клетки, находим среднее значение. Для определения концентрации клеток в 1 см³ полученное значение перемножали на коэффициент разведения и 2200. Полученное число показывало концентрацию живых или мертвых клеток в 1 см³.

Фенотипирование стволовых клеток костного мозга. Для количественного учета гемопоэтических стволовых

клеток и мезенхимальных стволовых клеток костного мозга до и после сепарации использовали проточный цитометр Becton Dickinson (BD) с аргонным лазером и наборы меченых антител. Процесс учета сводился к следующему этапу:

- осаждение клеток;
- связывание клеток с мечеными антителами;
- отмывание несвязавшихся антител;
- учет клеток, связанных с мечеными антителами в приборе проточной цитометрии.

Данный метод позволил определить процентное содержание клеток по маркерам.

Культивирование стволовых клеток костного мозга in vitro. Для культивирования стволовых клеток костного мозга in vitro образец костного мозга подвергали обработке лизирующим раствором или сепарировали в градиенте фикола- Paque™ LUS с плотностью (1,07). Часть суспензии клеток (5 мл) использовали для бактериологических анализов, определения концентрации ядродержащих клеток и мононуклеарных клеток, определения процента жизнеспособных клеток. Оставшуюся часть суспензии разводили питательной средой Mesencult до концентрации 1,0 -1,5 млн. клеток/мл. Полученную суспензию разливали по матрасикам Т-25 или Т-75 с вентилируемой крышкой и помещали в СО₂-инкубатор с 5% СО₂ и 95% влажности при температуре 36,8°С.

Через 3 суток после прикрепления клеток производили замену среды, в результате которой смывались не прикрепившиеся клетки. Последующие замены производили через 3-4 суток. На 4-6 сутки культивирования образовывались колонии фибробластоподобных клеток, к которым прикреплялись округлые клетки. На 10-12 сутки культивирования образовывался монослой клеток, в основном из фибробластоподобных и небольшой части эпителиоподобных клеток различных форм. Образовавшийся монослой клеток снимали диспергирующим раствором, состоящим из смеси растворов трипсина и натриевой соли этилендиамин-тетра-уксусной кислоты (ЭДТА) в соотношении 1:3.

Процедура состояла из следующих этапов: 1) Удаляли среды из культуры, клетки оставались на подложке. Отмывали клетки раствором Хенкса, чтобы удалить остаточное содержание сыворотки в среде. 2) Добавляли 5 мл диспергирующего раствора, чтобы покрыть клетки и инкубировали при t 37°С в течение 3 – 7 минут. 3) После визуального отделения клеток добавляли 1 мл FBS, чтобы нейтрализовать действие трипсина или добавляли 5 мл питательной среды. 4) Переливали трипсинизированные клетки в 15 мл пробирки и центрифугировали клетки при 1200 об/мин в течение 8 минут при комнатной температуре с тормозом. Надосадок удаляли, осажденные клетки ресуспендировали в питательной среде «Mesencult».

При культивировании клеток костного мозга в описанных условиях основное развитие получали мезенхимальные стволовые клетки костного мозга.

Криоконсервация стволовых клеток костного мозга. Замораживание культур стволовых клеток костного мозга проводили с применением фетальной сыворотки КРС и ДМСО. Содержание фетальной сыворотки КРС в суспензии клеток не было ниже 30%. Предварительно суспензия клеток и ДМСО были охлаждены до +4-5°С. ДМСО набирали в стерильную пипетку и медленно по каплям добавляли в суспензию клеток и постоянно покачивали флакон. Это позволяло избежать экзотермической реакции, возникающей при быстром смешивании ДМСО и среды, соответственно уменьшить повреждения клеток. Объем ДМСО не превышал 10% от общего объема суспензии. Затем суспензию разливали по криопробиркам

и делали высеv на тиогликолевую среду. Использовали криопробирки объемом 4 мл и 2 мл. Суспензию соответственно разливали по 3,5 и 1,5 мл. Криопробирки объемом 4 мл использовали для разлива всей суспензии, а криопробирки объемом 2 мл для разлива той части суспензии, используемой для различных анализов, т.е. пробирки-сателлиты.

После разлива суспензии криопробирки маркировали и помещали в бытовой холодильник при температуре 4-8°C на 1,5-2 часа для эквнлибрации криопротектора в клетки. По истечении срока криопробирки помещали в пенопластовый ящик, который переносили в низкотемпературный холодильник. Через 24 часа после начала криоконсервации криопробирки опускали в сосуды Дьюара с жидким азотом.

В исследовании использовали три варианта криосреды: 1) -70% MEM + 10% ДМСО + 20% ST; 2) - 60% MEM + 10% ДМСО + 30% ST; 3) - 50% MEM + 10% ДМСО + 40% ST.

Существенной разницы при хранении при температуре минус 70°C и жидком азоте первые тридцать суток не наблюдали. Процент живых и мертвых клеток в размороженной суспензии находился в пределах нормы. При увеличении срока хранения свыше 45 суток существенно увеличивался процент мертвых клеток в суспензии, хранящихся при температуре минус 70°C. В ампулах, хранящихся в жидком азоте, процент мертвых клеток находился в пределах нормы. Увеличение содержания сыворотки в криосреде оказывало небольшое криопротекторное действие. Поэтому процент сыворотки в криосреде не был ниже 30%.

Отработка технологии трансплантации стволовых клеток в половые железы смоделированных лабораторных животных в эксперименте. В качестве объекта исследований использовали беспородных кроликов-самцов, весом 3-4 кг в количестве 27 голов, которым был смоделирован хронический орхоэпидидимит. На 30-е сутки после постановки диагноза на основе патоморфологических и ультразвуковых исследований подопытным животным проводили антибактериальную терапию цефазолином в дозе 10 мг/кг веса в течение трех суток.

Экспериментальные животные были разделены на три группы: 1) Испытуемая группа, которым проведено интрапаренхимальное введение аутологичных мононуклеарных клеток костного мозга; 2) Испытуемая группа, которым проведено интрапаренхимальное введение аутологичных мультипотентных стромальных клеток костного мозга; 3) Контрольная группа – без лечения.

У животных первой группы производили забор костного мозга из крыла подвздошной кости в объеме 5 см³ с гепаринизированным раствором Хенкса. Сепарацию клеток костного мозга проводили лизирующим раствором в течение 15 минут. После отмывания ядродержащих клеток от эритроцитов осадок ресуспендировали в 1 мл физиологического раствора и вводили в несколько точек паренхимы яичка.

У животных второй группы также был произведен забор костного мозга из крыла подвздошной кости в объеме 5 см³ с гепаринизированным раствором Хенкса. После сепарации в градиенте фикола и отмывания ядродержащих клеток от эритроцитов осадок ресуспендировали в питательной среде «Mesencult», специальной среде для культивирования мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток. Клетки высевали в матрасики Т-25. На 5-6 сутки культивирования формировался монослой фибробластоподобных клеток в соответствии с рисунком 1.

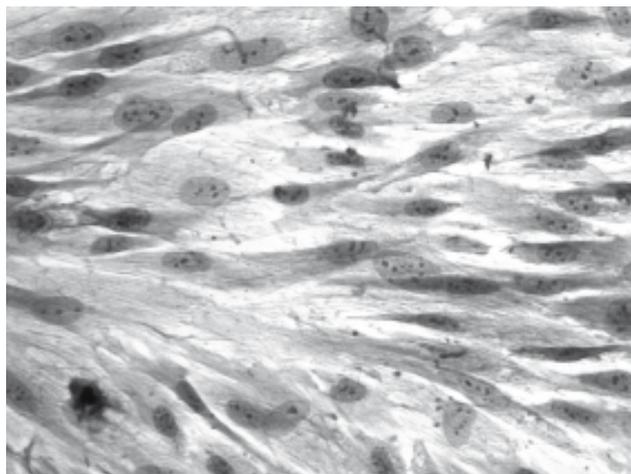


Рисунок 1 – Культура клеток ММСК кролика, 6 сутки. Окраска по Гимза. Увеличение 10х20

По достижении монослоя клетки снимали диспергирующим раствором, отмывали раствором Хенкса. После центрифугирования осадок клеток ресуспендировали в физиологическом растворе. Концентрация клеток была 1 млн клеток/см³. Аутологичные мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки вводили интрапаренхимально.

У животных контрольной группы клетки не вводили. На 30, 45 и 60 сутки подопытных животных кастрировали, половые железы помещали в 10% раствор формалина для дальнейшего приготовления гистологических препаратов.

Результаты ультразвукового исследования

3 сутки. Определено увеличение размеров половых желез на 3-5 мм, в структуре выявлены гипозоногенные включения размерами 2-4 мм, свидетельствующие о наличии воспалительного процесса, сосудистый рисунок желез усилен, количество видимых сосудов увеличено.

7 сутки. Определено увеличение размеров яичка на 5-7 мм, в структуре выявлены множественные мелкие гипозоногенные включения, сосудистый рисунок ткани желез усилен, количество видимых сосудов увеличено.

15 сутки. Размеры желез прежние, в структуре определены единичные гипозоногенные включения, а также участки уплотнения размером 1-2 мм.

30 сутки. Размеры желез нормальные, в структуре определены участки повышенной эхоплотности размером от 3-9 мм, при ультразвуковой доплерографии кровотоков в области уплотнения значительно снижен, отмечены оскудение и деформация сосудистого рисунка в области участка фиброза. Скорость кровотока снижена по сравнению с контрольной группой.

В таблицах 1 и 2 представлены результаты ультразвуковой доплерографии сосудов половых желез исследованных лабораторных животных.

Данные таблицы 1 показывают, что на 30-е сутки наблюдаются достоверные изменения индекса резистентности сосудов кроликов после введения культуры.

Аналогичные изменения прослеживались при измерении пульсационного индекса в артериях семенников у кроликов на 30-е сутки (табл. 2).

Результаты морфологического исследования

Гистологически паренхима нормальных половых желез представлена семенными извитыми канальцами. Между ними находилась интерстициальная ткань. Дольки семенника состояли из разветвленного семен-

Таблица 1 – Динамика изменений индекса резистентности в артериях семенников кроликов после введения культуры в различных группах

Группа	До введения	3 сутки	7 сутки	15 сутки	30 сутки
	0,71±0,1	0,62±0,09	0,59±0,014	0,53±0,12	0,32±0,08

Таблица 2 – Динамика изменений пульсационного индекса в артериях семенников кроликов после введения бактериальной культуры

Группа	До введения	3 сутки	7 сутки	15 сутки	30 сутки
	1,41±0,1	1,27±0,17	1,08±0,14	0,87±0,07	0,54±0,14

ного канальца. Канальцы имели одинаковые размеры и четко определяемый просвет в большинстве из них. Стенка канальцев состояла из 4-5 клеточных слоев от базальной мембраны к просвету. Между канальцами определяли соединительная ткань, в которой располагались островки эндокриноцитов, а также небольшое количество лимфоцитов. Снаружи семенной каналец окружен тонкой соединительнотканной оболочкой, содержащей фиброциты, коллагеновые и эластические волокна.

Исследуемая группа. Кровеносные сосуды оболочек наполнены кровью, в некоторых участках оболочек отмечали кровоизлияния и небольшое скопление отечной жидкости вокруг сосудов. Сама межканальцевая соединительная ткань набухшая, слегка разрыхлена и отечная. В ней отмечали отёк (белые стрелки) и лимфогистиоцитарную инфильтрацию (черные стрелки) в стромах половых желез между извитыми канальцами.

У лабораторных животных после введения бактериальной культуры на 15-е сутки в семенниках обнаружили изменения, свидетельствующие о нарушении сперматогенеза. Картина строения была резко смазана за счёт разнокалиберных, но в основном, больших очагов некроза стромы и паренхимы как яичка, так и придатков. В стромах яичка и придатков наблюдали выраженную очаговую лимфогистиоцитарную инфильтрацию, в зоне некроза – умеренную лейкоцитарную инфильтрацию.

Кроме того, наблюдали очаги некроза на разных его стадиях: от кариорексиса до кариолизиса. В очагах некроза были сохранены единичные участки извитых канальцев, в них, как и вне участков некроза, сперматогенез почти отсутствовал: просвет извитых канальцев «пустой», сперматогонии были расположены в 1 ряд, в

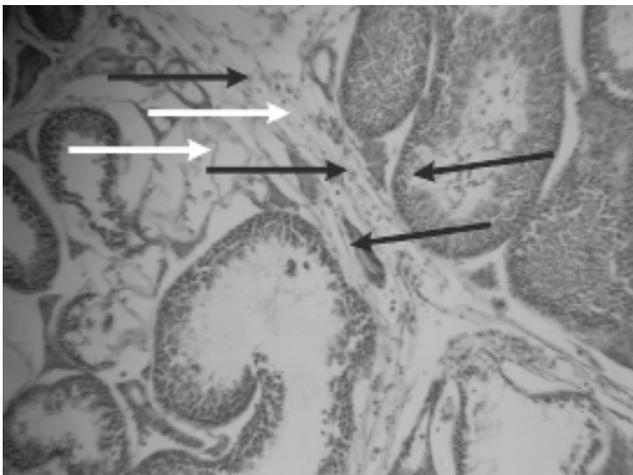


Рисунок 2 – Испытуемая группа. 15 сутки.

Извитые канальцы семенника.

Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение 10x20

нескольких случаях в 2 ряда, сперматоциты отсутствовали. Просвет выводящих протоков был пуст, выражен фиброматоз стромы, отчего выводные канальцы сгруппированы по 2-5 с перифокальной лимфоцитарной инфильтрацией и склерозом с гиалинозом.

На 30-е сутки в семенных канальцах выявлены очаговые нарушения сперматогенеза. В большей

части обоих яичек органоидная структура строения была смазана за счёт массивной диффузной лимфогистиоцитарной инфильтрации и разрастания соединительной ткани с замещением стромы и паренхимы яичка, примерно в 60-70%. В оставшейся ткани яичка просветы извитых канальцев пусты: сперматогонии расположены в 1, редко в 2 слоя, без признаков пролиферации. В соединительной ткани множественные разнокалиберные очаги базофильных кристаллических масс (кальциноз), сохранившиеся выводящие протоки пусты.

Результаты проведенных работ показали, что половые клетки разных стадий развития чувствительны к действию повреждающих агентов инфекционной природы. Морфологическое исследование экспериментального материала показало, что распространение инфекционного процесса имеет строгую последовательность. При введении клеток бактерий (клинический штамм) в семенник путём его пункции воспалительный процесс развивался первоначально изолированно в яичке, в более отдаленные сроки, захватывая придаток яичка. Микроскопия показала, что инфекционный процесс проходил ряд закономерно сменяющихся друг друга стадий: первоначальная адгезия возбудителя к эпителию, микроколонирирование, альтерация эпителия и далее выраженная экссудативная реакция. Воспалительный инфильтрат распространялся на яичко, начиная с его средостения и затем мозаично захватывая его дольки.

Экссудативная реакция приводила к выраженному отёку, нарушению гемо- и лимфодинамики, что проявлялось резким расширением сосудов микроциркуляторного русла и лимфатикосов. Экссудативная реакция была настолько выражена, что отмечали наличие эозинофильного экссудата в просвете протока. Появление лейкоцитов во внутрипротоковом экссудате свидетельствует о распространении воспалительной реакции на вышележащие отделы протока с постепенным вовлечением в патологический процесс ткани придатка.

Таким образом, созданная у экспериментальных животных модель инфекционного орхоэпидидимита показала развитие воспалительного процесса в яичке при инфицировании бактериями.

Результаты ультразвукового исследования после трансплантации аутологичных мононуклеарных клеток в паренхиму яичка лабораторных животных

В ходе проведения экспериментальных исследований для оценки эффективности применения стволовых клеток использованы следующие показатели, представленные в таблице 3.

Анализ данных таблицы 3 показал, что показатели размеров семенников лабораторных животных, индекса резистентности и пульсационного индекса сосудов половых желез достоверно приближаются к своей нормальной величине на 60-е сутки после введения мононуклеарных стволовых клеток.

Результаты гистоморфологического исследования после трансплантации аутологичных мононуклеарных клеток в паренхиму яичка лабораторных животных. Для оценки динамики течения неспецифического хрониче-

Таблица 3 – Динамика изменений размеров семенников, индекса резистентности и пульсационного индекса в артериях семенников кроликов после введения стволовых клеток

Показатели	До эксперимента (средние значения)	15 сутки после введения бак. культуры	45 сутки после введения стволовых клеток	60 сутки после введения стволовых клеток	p
Размер семенников, мм	22,7±0,5	29,4±1,1	25,2±0,7	23,1±0,4*	0,05
Индекс резистентности	0,71±0,05	0,32±0,12	0,52±0,02	0,68±0,07*	0,03
Пульсационный индекс	1,41±0,07	0,42±0,09	1,19±0,06	1,37±0,01*	0,04

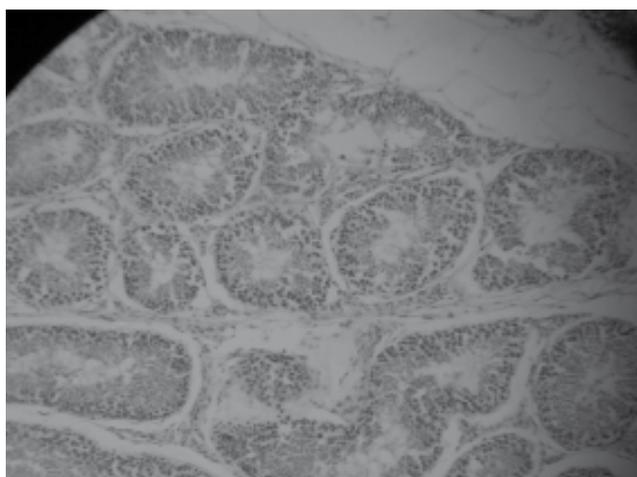


Рисунок 3 – Первая группа. Кролик №1.
15-е сутки эксперимента. Извитые каналцы семенника.
Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение 10x10

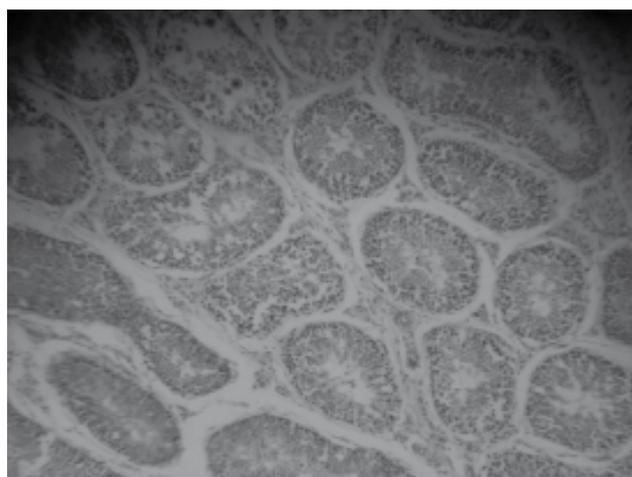


Рисунок 4 – Первая группа. Кролик №1.
30-е сутки эксперимента. Извитые каналцы семенника.
Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение 10x10

ского орхоэпидидимита у лабораторных животных были проведены гистоморфологического исследования после трансплантации аутологичных мононуклеарных клеток в паренхиму половых желез лабораторных животных на 30 сутки эксперимента.

Как показано на рисунке 3, в материале наблюдали ткань (паренхима) яичка с нормальной фиброзной стромой без признаков настоящего воспаления или его организации. Сперматогенез выражен удовлетворительно во всех извитых каналцах (15%).

Как показано на рисунке 4, в материале исследования

наблюдали ткань яичка, нормального гистологического строения. Строма яичка нежно-волокнистая, хорошо васкуляризирована, без признаков воспаления или его организации. Во всех каналцах наблюдали хорошо выраженный сперматогенез (слегка «запустевшие» каналцы единичны: около 10%).

Рисунок 5. В исследуемом материале нормальная ткань яичка. Признаков воспаления или его организации в строме и паренхиме не обнаружено. Сперматогенез выражен хорошо (полупустых каналцев около 25%).

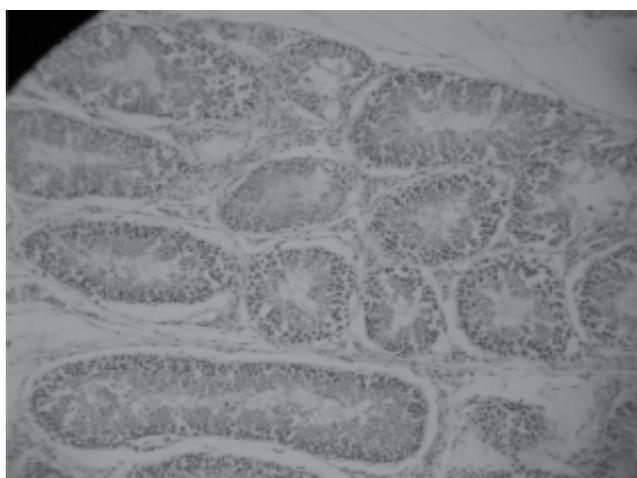


Рисунок 5 – Первая группа. Кролик №2.
15-е сутки эксперимента. Извитые каналцы семенника.
Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение 10x10

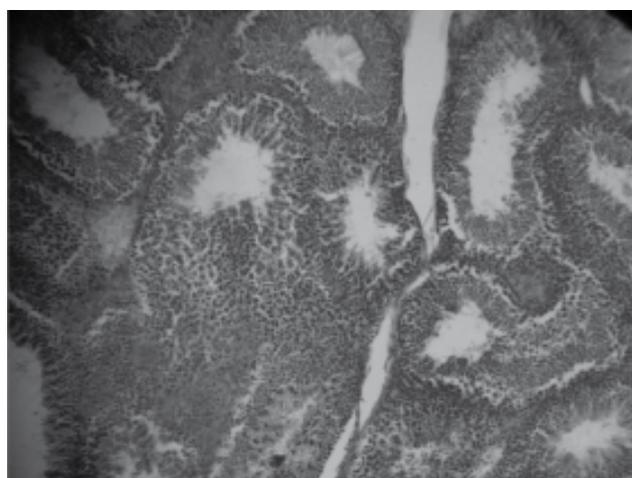


Рисунок 6 – Первая группа. Кролик №2.
30-е сутки эксперимента. Извитые каналцы семенника.
Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение 10x10

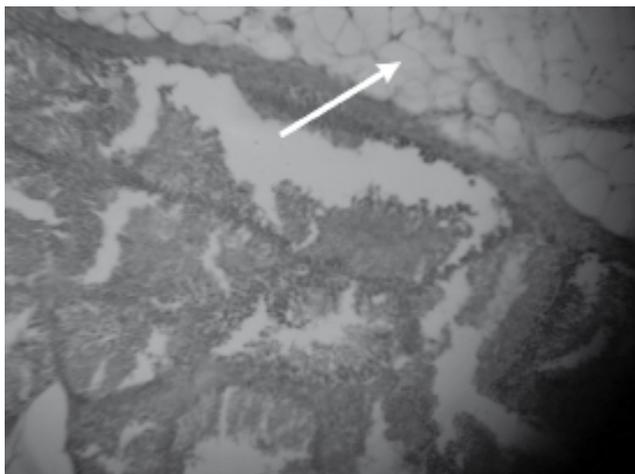


Рисунок 7 – Первая группа. Кролик №3.
15-е сутки эксперимента. Извитые каналцы семенника.
Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение 10x10

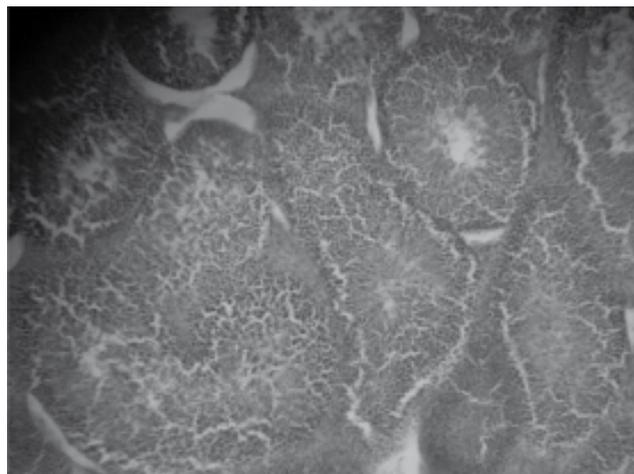


Рисунок 8 – Первая группа. Кролик №3.
30-е сутки эксперимента. Извитые каналцы семенника.
Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение 10x10

Как показано на рисунке 6, в материале ткань яичка без признаков настоящего воспаления в строме и паренхиме яичка, а также в прилежащих тканях. Сперматогенез выражен удовлетворительно.

В материале ткань яичка без признаков настоящего воспаления в строме и паренхиме яичка, а так же в прилежащих тканях (стрелка). Сперматогенез выражен удовлетворительно (рис. 7).

В исследуемом материале ткань яичка нормального гистологического строения, без признаков воспаления или его организации в строме и в паренхиме. Сперматогенез отличный: «полупустых» каналцев менее 5% (рис. 8).

Результаты гистоморфологического исследования после трансплантации аутологичных моноуклеарных клеток костного мозга в паренхиму яичка показывают, что при этом наблюдается положительный эффект, выражающийся в нормализации фиброзной стромы, хорошей васкуляризации стромы, уменьшении «запустевших» каналцев (5-25%). Таким образом, доказано, что трансплантация аутологичных моноуклеарных клеток КМ в паренхиму яичка приводит к уменьшению и исчезновению признаков воспаления и, главным образом, улучшает сперматогенез.

Результаты гистоморфологического исследования препаратов после трансплантации аутологичных моноуклеарных клеток в паренхиму яичка показывают, что наблюдается положительный эффект, выражающийся в:

- нормализации фиброзной стромы;
- удовлетворительной или хорошей васкуляризации стромы;
- уменьшении «запустевших» семенных каналцев.

Обсуждение

Учитывая актуальность поиска новых методов лечения infertility у мужчин, в экспериментальной работе проведена комплексная оценка регенерационных возможностей яичек у животных, перенесших воздействие неспецифической бактериальной флоры на паренхиму яичек. Подробно освещена методика моделирования экспериментального орхоэпидидимита, описаны изменения структуры паренхимы яичек, а также показателей скорости кровотока и периферических индексов у лабораторных животных.

Изучены особенности повреждения сперматогене-

за у экспериментальных животных на разных сроках, разработана и обоснована эффективная техника моделирования экспериментального орхоэпидидимита, которая является удобной для изучения и внедрения новых методов лечения infertility и может быть использована для экспериментального лечения этих заболеваний.

Экспериментальным путем установлены нормальные показатели размеров яичек, показателей скорости кровотока, индекса резистентности и пульсационного индекса у лабораторных кроликов.

Морфологически доказано влияние неспецифической бактериальной культуры на функциональное состояние половых желез у лабораторных животных.

Была разработана технология выделения и подсадки аутологичных моноуклеарных клеток в паренхиму яичка лабораторных животных.

Таким образом, по результатам экспериментального исследования можно сделать следующие **выводы**:

1. Наиболее оптимальным методом сепарации клеток костного мозга является обработка суспензии клеток лизирующим раствором. Метод позволяет максимально выделить стволовые клетки костного мозга. Сепарация клеток в градиенте фикола приводит к потере до 40% клеток, хотя нет остаточного количества эритроцитов. Поэтому в дальнейшем нами проводилась в основном обработка клеток костного мозга лизирующим раствором для выделения МНК.

2. Полученные результаты показали, что интрапаренхимное введение аутологичных моноуклеарных стволовых клеток костного мозга в зону хронического воспаления привело к положительным изменениям и может считаться методом выбора подсадки стволовых клеток.

3. На 60-е сутки проведена оценка ультразвуковых показателей, которые именно в эти сроки достоверно изменились до своих нормальных значений. Индекс резистентности $0,68 \pm 0,07$ ($p \leq 0,03$) и пульсационный индекс $1,37 \pm 0,01$ ($p \leq 0,04$). Результаты гистоморфологического исследования после трансплантации аутологичных моноуклеарных клеток костного мозга в паренхиму яичка показывают, что при этом наблюдается положительный эффект, выражающийся в нормализации фиброзной стромы, хорошей васкуляризации стромы, уменьшении «запустевших» каналцев.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Цынкаловский О. Р., Вик-Мо А, Ферейра С, Лярум О. Д, Фьюсо А. Использование проточной цитометрии для определения кроветворных стволовых клеток рыб *Danio regio* // Российский иммунологический журнал. – 2008. – Т. 2 (11), № 2-3. – С. 116
- 2 Сафаров Ш.А. Современные подходы к лечению острого эпидидимоорхита: дисс. ... канд. мед. наук. – Москва, 2007
- 3 Цынкаловский О.Р., Зайденов В.А, Пахотных А.С., Андрианов В.А. Использование «side population» для выделения стволовых клеток в нормальных и опухолевых тканях // Медицинская иммунология. – 2008. – Т. 10, №4-5. – С. 319-326
- 4 Сафонов И.А., Коршунов А.В., Хлебов О.П. Острый эпидидимит в послеоперационном периоде у больных доброкачественной гиперплазией простаты // Всероссийское научное общество урологов. Пленум: Материалы. – Киров, 2000. – С. 220
- 5 Цынкаловский О.Р., Розенлюнд Б., Сотерн Р.Б., Лярум О.Д. Изменение экспрессии *mBmal1*, контролирующего циркадные ритмы, в кроветворных клетках костного мозга мышей происходит неритмично // Аллергология и иммунология. – 2008. – Т.9, № 3. – С. 258
- 6 Насникова И.Ю., Маркина Н.Ю., Кислякова М.В., Милехин А.П., Алферов С.М. Ультразвуковая диагностика заболеваний мошонки // Медицинская визуал. – 2005. – №6. – С. 95-103
- 7 Цынкаловский О. Р., Розенлюнд Б., Эйкен Х.Г., Лярум О.Д. Разработка методики оценки экспрессии циркадных генов, контролирующих суточные ритмы кроветворения, в стволовых клетках костного мозга // Аллергология и иммунология. – 2008 – Т.9, №1. – С. 4

Т Ұ Ж Ы Р Ы М

**М.К. АЛШЫНБАЕВ, У.Ш. МЕДЕУБЕКОВ,
С.М. ҚҰСЫМЖАНОВ, А.К. БУЙРАШЕВ,
Б.Г. ТОКТАБАЯНОВ**

Б.У. Жарбосынов атындағы Урология ғылыми орталығы, Алматы қ.

ТӘЖІРІБЕДЕГІ АЙРЫҚША ЕМЕС ОРХОЭПИДИДИМИТ КЕЗІНДЕ ДІҢГЕКТІ ЖАСУШАЛАРДЫ АЛЛОТРАНСПЛАНТАЦИЯЛАУДЫҢ НӘТИЖЕЛЕРІ

Атабездің және қосалқысының жіті қабынуы (орхоэпидидимит) аса жиі урологиялық аурулардың бірі. Ерлердің 27% астамы өмір бойына эпидидимоорхитке шалдығады.

Зерттеу мақсаты ұрпақты болу функциялары бұзылған созылмалы айрықша емес орхоэпидидимит кезінде тәжірибелік жануарлардың жыныс бездері паренхимасына саралы емес діңгекті жасушаларды

ауыстырып қондырғаннан кейінгі атабез тінінің қайта туындату мүмкіндігін зерделеу. Осы жұмыстың негізіне салмағы 4-5 кг 60 тұқымсыз үй қояндарын бақылау талдамасы алынған. Жұмыс барысында барлық жануарларға ұма органдарын ультрадыбыстық зерттеу, ұма органдарының биоптаттарын гистоморфологиялық зерттеу жүргізілді. Созылмалы орхоэпидидимиттің бар екендігі гистоморфологиялық расталғаннан кейін зертханалық жануарлардың сүйек кемігі алынды, оны созылмалы айрықша емес орхоэпидидимиттің анық белгілер бар атабез паренхимасына бірнеше нүктемен енгізілді. Аутологиялық моноукларлық жасушаларды атабез паренхимасына ауыстырылып қондырылғаннан кейін препараттарды гистоморфологиялық зерттеу нәтижелері аталған емдеу әдісінің оң әсерін дәлелдеді.

Негізгі сөздер: орхоэпидидимит, бағаналық жасушалар, ультрадыбыстық зерттеу, гистоморфологиялық зерттеу.

S U M M A R Y

**M.K. ALCHINBAEV, U.Sh. MEDEUBEKOV,
S.M. KUSYMZHANOV, A.K. BUYRASHEV,
B.G.TOKTABAYANOV**

Scientific Center of Urology n. a. B.U. Dzharbussinov, Almaty c.

THE RESULTS OF THE ALLOGRAFT STEM CELLS IN NONSPECIFIC ORCHIEPIDIDYMITIS IN THE EXPERIMENT

An acute inflammation of the testis and epididymis (orchiepididymitis) is the one of the most common urological diseases. Over 27% of men suffer lifelong orchiepididymitis.

The purpose of the study was to research the regenerative capacity of the testicular tissue after the transplantation of undifferentiated stem cells in the parenchyma of the sex glands in experimental animals with the chronic nonspecific orchiepididymitis with impaired reproductive function. In the basis of this work is put the analysis of the observations for 60 purebred rabbits weighing 4-5 kg. In the work duration, in all animals were both ultrasound of the scrotum and the morphology study of biopsies of the scrotum conducted. After the histomorphological confirmation of the presence of the chronic orchiepididymitis was made the bone marrow fence in laboratory animals, which were injected at several points of the testicular parenchyma with the reliable signs of the chronic nonspecific orchiepididymitis. The results of the histomorphological samples study after the transplantation of the autologous mononuclear cells in the testicular parenchyma have showed the positive effects of this treatment.

Key words: orchiepididymitis, stem cells, ultrasound, morphology study.

УДК 616.62-002.2-289

**М.А. МАЛИХ, У.Ш. МЕДЕУБЕКОВ, А.И. КАИМБАЕВ, С.А. РОМАНОВА,
Ж.Е. КУАНШАЛИЕВА, Г. АБДИЕВ**

Научный центр урологии им. Б.У. Джарбусынова, г. Алматы

НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ХИРУРГИЧЕСКОМУ ЛЕЧЕНИЮ ЛЕЙКОПЛАКИИ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

Лейкоплакия мочевого пузыря – заболевание, имеющее тенденцию к увеличению, встречающееся в основном у женщин трудоспособного возраста, перенесших различные формы цистита. Существуют различные методы эндоскопического лечения данного заболевания. До настоящего времени в основном производилась коагуляция лейкоплакии, но, учитывая развитие современных технологий на данном этапе, применяется плазменная вапоризация.

Ключевые слова: лейкоплакия мочевого пузыря, хирургическое лечение, эндоскопические технологии, плазменная вапоризация.