



Технологии регенеративной медицины как метод лечения мужского бесплодия: обзор литературы

М.В. Епифанова¹, А.А. Костин¹, А.А. Епифанов², К.А. Кириллова¹

¹Российский университет дружбы народов; Россия, 127006, Москва, ул. Долгоруковская, д.4

²ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Минздрава России; Россия, 127473, Москва, ул. Десятская, 20, стр. 1

Контакты: Майя Владимировна Епифанова, epifanova_maya@mail.ru

Проблема бесплодия в последнее время стала достаточно распространенной во всем мире, оказывая негативное влияние на сами пары и общество в целом. На долю мужского фактора бесплодия приходится около 50% случаев, в связи с этим большое количество проведенных исследований направлено на поиск новых методов лечения данной патологии. Однако принятые современные методы лечения, в том числе вспомогательные репродуктивные технологии, на сегодняшний день недостаточно эффективны. В последнее время большое внимание уделяется применению технологий регенеративной медицины в лечение заболеваний репродуктивной системы мужчин и женщин за счет своего огромного потенциала. В настоящем обзоре представлены существующие экспериментальные и клинические исследования, в которых изучалось действие, безопасность и эффективность применения стволовых клеток разного рода происхождения, индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, экзосом, сперматогонимальных стволовых клеток, аутоплазмы, обогащенной тромбоцитарными факторами роста при терапии различных типов мужского бесплодия.

Ключевые слова: мужское бесплодие, стволовые клетки, аутоплазма, обогащенная тромбоцитарными факторами роста, экзосомы, сперматогонимальные стволовые клетки, индуцированные плюрипотентные стволовые клетки.

Technologies of regenerative medicine as a method of treatment of male infertility: literature review

M.V. Epifanova¹, A.A. Kostin¹, A.A. Epifanov², K.A. Kirillova¹

¹RUDN University; 4 Dolgorukovskaya St., Moscow 127006, Russian Federation

²FSBEI HE "ROSUNIMED" OF MOH OF RUSSIA; Bld. 1, 20 Delegatskaya St., Moscow 127473, Russia

Contacts: Maya Vladimirovna Epifanova, epifanova_maya@mail.ru

The problem of infertility has recently become quite widespread all over the world, having a negative impact on couples themselves and society as a whole. The male factor of infertility accounts for about 50% of cases, in this regard, a large number of studies conducted are aimed at finding new methods of treating this disease. However, the accepted modern methods of treatment, including assisted reproductive technologies, are currently not effective enough. Recently, much attention has been devoted to the use of regenerative medicine technologies in the treatment of diseases of the reproductive system of men and women due to its significant potential. This review presents existing experimental and clinical studies that studied the effect, safety and efficacy of stem cells of various kinds of origin, induced pluripotent stem cells, exosomes, spermatogonial stem cells, platelet rich plasma in the treatment of various types of male infertility.

Keywords: male infertility; stem cells; platelet rich plasma; exosomes; spermatogonial stem cells; induced pluripotent stem cells.



Введение

Бесплодие определяется как заболевание, характеризующееся невозможностью достичь беременности в паре в течение 12 месяцев регулярной половой жизни без контрацепции вследствие нарушения способности субъекта к репродукции. По данным рекомендаций Европейской ассоциации урологов (EAU) на 2023 год, бесплодием страдают 15% семейных пар во всем мире, причем мужской фактор является основной или сопутствующей причиной примерно в 50% случаев [1]. Генетические факторы, травмы органов мошонки, воздействие токсинов, подавление иммунной системы и противоопухолевые препараты являются наиболее важными причинами мужского бесплодия [2]. Однако около 30–50% случаев мужского бесплодия являются идиопатическими, то есть без видимой причины, что указывает на недостаточное понимание механизмов, регулирующих сперматогенез и функцию сперматозоидов [3].

По данным рекомендаций Европейской ассоциации урологов на 2023 год [1], существует терапия антиоксидантами, гормональная терапия, хирургическое лечение (обструктивной формы азооспермии, варикоцеле, различных варианты биопсии яичек и придатков яичек), коррекция сопутствующих заболеваний и прочее. В случае неэффективности предложенных методик используют методы вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). Однако указанные выше методы показаны в определенных ситуациях, и часто эффект определяется причиной данной патологии. В случае с идиопатической формой существующая терапия не всегда дает ожидаемый результат [1].

Таким образом, на сегодняшний день возникает необходимость в поиске новых методов лечения различных форм мужского бесплодия, в том числе и идиопатической, ввиду отсутствия этиологической и патогенетической составляющих. В качестве патогенетически обоснованных методов в данном обзоре литературы предлагается рассмотреть технологии регенеративной медицины при коррекции мужского фактора бесплодия, более подробно остановиться на взрослых аутологических стволовых клетках и аутоплазме, обогащенной тромбоцитарными факторами роста (АОТ). Сводные данные по исследованиям представлены в таблице 1.

Регенеративная медицина

Возможности регенеративной медицины позволяют в настоящее время использовать их в качестве одного из методов лечения некоторых форм мужского бесплодия. Предметом регенеративной медицины служит разработка и практическое внедрение

методов по восстановлению органов и тканей, чье функционирование было утрачено вследствие дефектов, заболеваний или старения [4].

Стволовые клетки

Регенеративная медицина располагает большим объемом доступных средств коррекции мужского бесплодия, в том числе и применение стволовых клеток (СК). Особенностью стволовых клеток является их способность к самообновлению и дифференцировке в другие клетки. По своему происхождению стволовые клетки классифицируются как эмбриональные стволовые клетки (Embryonic stem cells, ESC); стволовые клетки взрослого человека (Adult stem cells, ASC), включая мезенхимальные стволовые клетки (МСК) (Mesenchymal stem cells, MSC); индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (Induced pluripotent stem cells, iPSCs); сперматогонимальные стволовые клетки (Spermatogonial Stem cells, SSC) и стволовые клетки яичников (Ovarian stem cells, OSCs).

По происхождению МСК классифицируются на [5]:

- стромальные клетки костного мозга (КМ);
- стволовые клетки жирового происхождения;
- МСК, полученные из менструальной крови;
- МСК, полученные из пуповины;
- МСК, полученные из амниотической жидкости;
- МСК, полученные из ткани плаценты;
- МСК, полученные из слюнных желез;
- МСК, полученные из пульпы.

Эффективное влияние мезенхимальных стволовых клеток в клеточной терапии и регенеративной медицине известно именно благодаря их иммуносупрессивной, иммуномодулирующей и регенеративной активности [5, 6].

Также стволовые клетки подразделяются на категории в зависимости от их способности дифференцироваться в различные клеточные линии, включая тотипотентные стволовые клетки, плюрипотентные стволовые клетки (ПСК), мультипотентные стволовые клетки, унипотентные стволовые клетки [7, 8]. Еще одной уникальной особенностью стволовых клеток является симметричное и асимметричное деление клеток [9].

Эмбриональные стволовые клетки

Эмбриональные стволовые клетки — это плюрипотентные стволовые клетки, полученные из внутренней клеточной массы бластоцисты. ESCs обладают способностью дифференцироваться в несколько клеточных линий и самообновляться. В результате спонтанного процесса ESCs могут дифференцироваться



в зародышевые клетки различных стадий частично из-за их способности к самообновлению и культуры их микроокружения [10]. Известно, что ESCs способны к дифференцировке в первичные половые клетки и благодаря мейозу могут давать начало мужским и женским половым гаметам [11]. Одними из первых, кто сообщил о формировании предполагаемых мужских мейотических зародышевых клеток из первичных зародышевых, полученных из ESCs были N. Geijsen и соавт. (2004) [12]. Далее несколько исследований продемонстрировали эффективность ESCs мышиноного происхождения для образования жизнеспособных сперматозоидов и в конечном счете живого потомства путем интрацитоплазматической инъекции в жизнеспособную яйцеклетку [13, 14]. Но ввиду этических моментов возможности использования данного вида клеток ограничены.

Индукцированные плюрипотентные стволовые клетки

Впервые индукция плюрипотентных стволовых клеток из фибробластов мышей была зарегистрирована К. Takahashi и соавт. (2005) [15]. Экспрессия четырех факторов транскрипции (OCT4, SOX2, KLF4 и MYC) приводит к перепрограммированию соматических клеток в iPSCs, которые по морфологии и функциональной способности напоминают ESCs. Преимущество данного вида клеток заключается в возможности их выделения из соматических клеток взрослого человека и меньшей вероятности иммунного отторжения, а также во избежание этических проблем, связанных с использованием эмбрионов [16]. Ряд исследований демонстрирует различные способы дифференцировки iPSCs в первичные зародышевые клетки (Primordial Germ Cells, PGCs) [17–20].

Работа V. Volarevic и соавт. (2014) показала, что iPSCs как мышей, так и человека могут дифференцироваться в половые клетки [21]. Y. Zhu и соавт. (2012) [22] продемонстрировали способность iPSCs дифференцироваться в мужские половые клетки поздней стадии. В их исследовании эмбриоидные тельца (Embryoid body, EB) были взяты из индуцированных плюрипотентных клеток с использованием культуральной среды, не содержащей цитокина лейкемии-ингибирующего фактора (leukemia inhibitory factor, LIF). После индукции ретиноевой кислотой EB дифференцировались в сперматогонияльные стволовые клетки. Эти клетки были трансплантированы в семенники мышей с индуцированной бусульфановой моделью бесплодия. В конечном итоге сперматогонияльные стволовые клетки, полученные из iPSCs, дифференцировались в различные мужские половые клетки [22].

Дифференцировка мышинных iPSCs линии 4.1 (miPS-4.1) в мужские половые клетки была изучена H. Cai и соавт. (2013) [23] *in vivo* и *in vitro*. В модели *in vitro* поведение клеток miPS-4.1 было идентичным поведению дифференцирующихся ESCs. В модели *in vivo* клетки miPS-4.1 были совместно трансплантированы с неонатальной суспензией тестикулярных клеток. В последующем наблюдалось эктопическое восстановление структуры семенных канальцев. В завершении исследования авторы заявили о индукции дифференцировки клеток miPS-4.1 в мужские зародышевые клетки [23].

Прорыв в истории получения половых гамет из плюрипотентных стволовых клеток случился благодаря исследованиям С. Yamashiro и соавт. (2018) [24]. В данном исследовании человеческие плюрипотентные стволовые клетки (human pluripotent stem cells, hPSCs) были индуцированы в примордиальные зародышевые подобные клетки (human primordial germ cells, hPGCLCs) в течение четырех месяцев *in vitro*, однако дальнейшая дифференцировка в зрелую зародышевую клетку не была достигнута. Подобные полученные оогонии демонстрируют признаки эпигенетического перепрограммирования — деметилирование ДНК в масштабах всего генома, подавление aberrантного метилирования ДНК в hPSCs — и немедленно приобретают состояние предшественника для мейотической рекомбинации. Кроме того, неактивная X-хромосома демонстрирует частичное прогрессирующее деметилирование и реактивацию. Эти результаты подтверждают компетентность hPSCs в отношении зародышевой линии и являются важным шагом на пути к гаметогенезу человека *in vitro* [24].

Ограничения использования iPSCs в персонализированной медицине обусловлены онкологическими рисками ввиду возможной злокачественной трансформации дифференцированных плюрипотентных стволовых клеток и образования доброкачественной тератомы из остаточных недифференцированных плюрипотентных стволовых клеток [25]. Также на сегодняшний день мало изучена молекулярная и функциональная эквивалентности iPSCs эмбриональным стволовым клеткам. Необходим тщательный анализ геномной и эпигеномной составляющей iPSCs человека перед применением данного метода в клинической практике при лечении различных заболеваний.

Фетальные стволовые клетки

F. Amidi и соавт. (2015) [26] доказали, что мезенхимальные стволовые клетки, полученные из вартониева студня под действием смеси костного морфогенетического белка-4, среды для культивирования яичек и плаценты, ретиноевой кислоты, могут



дифференцироваться в мужские половые клетки. Подобная индукция привела к повышению регуляции всех генов, специфичных для половых клеток (c-Kit, DDX4, Piwil2, Dazl) ($p < 0,05$) [26].

Также рассматривается применение фетальных стволовых клеток, получаемых из пуповинной крови и внутри, применение которых высокоэффективно, однако их получение требует консервации с момента рождения. Количество стволовых клеток на 1 мл ткани в пуповинной крови в разы превышает объем из жировой ткани и в сотни раз из костного мозга. Стволовые клетки, выделенные из пуповинной крови (umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells, UCB-MSCs), также демонстрируют многообещающие результаты. В исследовании *S.H. Abd Allah* и соавт. (2017) [27] отмечают восстановление нормальной гистоархитектоники семенных канальцев и образование зрелых сперматозоидов при введении UCB-MSCs мышам с индуцированной азооспермией бусульфаном. Подобные результаты двумя годами ранее отмечали *H. Chen* и соавт. (2015) [28].

Взрослые аутологичные стволовые клетки

Терапевтические возможности мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток человека или мезенхимальных стволовых клеток вызвали растущий интерес к широкому спектру биомедицинских дисциплин. Существует несколько методов получения ASC из различных тканей. Источником могут быть следующие: костная, жировая ткани, ткань печени, кожа. Для получения МСК из костного мозга (Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells, BM-MSCs) используется трепанобиопсия с дальнейшим культивированием клеток. Для получения стволовых клеток из жировой ткани (adipose tissue-derived mesenchymal stem cells, AT-MSCs) прибегают к стандартной липосакции [29]. Полученные стволовые клетки из жировой ткани принято классифицировать на культивируемые (adipose-derived stem cells, ADSC) и некультивируемые. В литературе последним присвоены два равноценных термина: стромально-васкулярная фракция (СВФ) и adipose-derived regenerative cells (ADRC). Результаты сравнительных исследований, посвященных изучению получения стволовых клеток из костного мозга и из жировой ткани, продемонстрировали явное преимущество вторых над первыми. Причиной является не только способы выделения ASC, но и стоимость процедуры, количество получаемых клеток на грамм ткани [29–33]. Считается, что МСК, полученные из жировой ткани, обладают более мощным иммуномодулирующим действием, большим пролиферативным потенциалом и секрецией факторов роста и цитокинов по сравнению с BM-MSCs [34].

Возможность использования МСК в качестве терапии мужского бесплодия обусловлена следующими механизмами действия: дифференцировка в сперматозоиды или слияние с эндогенными мезенхимальными стволовыми клетками для восстановления сперматогенеза, а также восстановление сперматогенеза посредством иммуномодулирующего и паракринного эффекта за счет секреции большого пула факторов роста и цитокинов [35].

На сегодняшний день часть исследований демонстрируют, что трансплантированные BM-MSCs в яички бесплодных животных, получавших бусульфан, могут дифференцироваться в мужские половые клетки, а также клетки Сертоли и Лейдига [36, 37]. К подобным заключениям пришли *C. Cakici* и соавт. (2013), обнаружив клетки GFP(+)/VASA(+), GFP(+)/SCP1(+) в семенниках, после трансплантации МСК из жировой ткани [38].

Существует ряд исследований, в которых также продемонстрировано влияние на восстановление ткани яичек, придатков яичка и сперматогенеза после индукции нарушения сперматогенеза благодаря паракринным эффектам МСК из костной ткани [39–41] и жировой ткани [42, 43].

К другим доказанным эффектам после трансплантации мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани в поврежденные ишемией/реперфузией семенники относят: торможение апоптоза, купирование оксидативного стресса (ОС), повышение секреции тестостерона, нормализация уровня ФСГ, продукция факторов стволовых клеток [44]. Подобными свойствами обладают и МСК, выделенные из костного мозга, т.к. купировалась гонадотоксичность, вызванная цисплатином, посредством антиоксидантных, противовоспалительных и антиапоптотических механизмов [45].

Генерация мужских зародышевых клеток из МСК жировой ткани у мышей с азооспермией, индуцированной бусульфаном, а также восстановление сперматогенного эпителия была отмечена в исследовании *M. Ganjibakhsh* и соавт. (2022), что еще раз доказывает возможности клеточной терапии МСК, полученных из жировой ткани, устранять патологические изменения в семенных канальцах яичек. Следовательно, он может иметь клиническое значение в лечении азооспермии у пациентов с бесплодием [46].

Подобные данные об успешности применения МСК из костного мозга, жировой ткани, а также кондиционированной среды, содержащей внеклеточные везикулы с МСК (bone marrow conditioned media, BMCM), в качестве терапии необструктивной азооспермии на мышах опубликованы *R. Zhankina* и соавт. (2022). По результатам патоморфологического



исследования и проточной цитометрии обнаружена нормальная морфология основной массы семенных канальцев, восстановление сперматогенеза в группах с терапией МСК. При межгрупповом анализе терапии МСК из жировой ткани и КМ показали более значимые результаты в восстановлении сперматогенеза [47].

BM-MSC обладают потенциалом дифференцировки и секретируют противовоспалительные цитокины и факторы роста, которые делают их подходящими для клеточной терапии. Это доказывает исследование А. Tamadon и соавт. (2015), в котором после формирования азооспермии бусульфаном хомякам-самцам, вводили BM-MSC. Через 35 дней после введения BM-MSC, был проведен патоморфологический анализ ткани яичка и придатка яичка. Эпителиальная ткань семенных канальцев имела нормальную морфологию, а в придатках яичка присутствовали сперматозоиды, что являлось абсолютной противоположностью ткани второго яичка и его придатка, которые не были подвержены воздействию BM-MSC [48]. Подобные результаты были получены М. Hajihoseini и соавт. (2017) [49] и А. Vahdati и соавт. (2017) [37].

С.М. Aghamir и соавт. (2014) [50] показали, что другой, не менее важной причиной мужского бесплодия является наличие антиспермальных антител в результате иммунного ответа. По результатам исследования трансплантация BM-MSC мышам оказывает подавляющее действие на иммунный ответ против сперматозоидов при травматизации семенников. Таким образом, авторы предполагают, что трансплантация BM-MSC может быть использована для лечения аутоиммунного бесплодия у мужчин [50].

Неоднозначность данных исследований говорит о том, что на сегодняшний день использование МСК различного происхождения в лечении мужского бесплодия оправданно благодаря их способности улучшения ткани яичек и восстановления сперматогенеза за счет их паракринной секреции. Менее инвазивные, менее дорогостоящие, мощные иммуномодулирующие эффекты, большой пролиферативный потенциал и большая секреция факторов роста и цитокинов являются наиболее важными приоритетами AT-MSC по сравнению с BM-MSC для клеточной терапии [51].

На сегодняшний день есть несколько зарегистрированных клинических исследований по оценке эффективности и безопасности интратестикулярных инъекций мезенхимальных стволовых клеток из костного мозга (NCT02025270 [52], NCT02641769 [53], NCT02008799 [54], NCT02041910 [55]) и из жировой ткани (NCT03762967) [56] при лечении необструктивной формой азооспермии, в том числе пациентов

с синдромом Клайнфельтера (NCT02414295) [57]. Инъекция BM-MSC производилась интратестикулярно, результаты исследования на данный момент не опубликованы.

Экзосомная терапия мужского бесплодия

Хорошо известно, что активность стволовых клеток контролируется и регулируется ограниченной тканевой средой, известной как ниша. Ниши включают в себя совокупность клеток, которые взаимодействуют посредством паракринной коммуникации, метаболических, физических и химических сигналов [58]. Конфигурации ниш стволовых клеток отличается в различных тканях [59]. Функционирование и активность стволовых клеток может изменяться ввиду нарушения регуляции со стороны компонентов ниши [60]. При наличии повреждения в одном из компонентов ниши для восстановления сперматогенеза требуется нормализация его функционирования. Роль в межклеточной коммуникации в нише в большей степени принадлежит экзосомам (внеклеточным везикулам, ВВ), которые осуществляют ее посредством переноса биоактивных белков, липидов и РНК [61]. ВВ делят, в зависимости от их биогенеза, на подгруппы, такие как везикулы (экзосомы) (40-150 нм в диаметре), микровезикулы (150-1000 нм в диаметре) и апоптотические тельца (50-2000 нм в диаметре) [62].

МСК секретируют экзосомы, которые обладают сходными белковыми молекулами и биологической активностью. Иммуномодуляция, регенерация, восстановление тканей и стимулирование ангиогенеза — это аналогичные терапевтические эффекты экзосом, полученных из МСК, *in vivo* и *in vitro*. Эти сходные действия могут быть связаны с наличием общей белковой сигнатуры во всех экзосомах, полученных из МСК [63]. Таким образом, экзосомы могут представлять значительную альтернативу клеточной терапии, что обеспечивает им преимущество из-за потенциального уменьшения нежелательных побочных эффектов после применения, а также инфузионной токсичности, неконтролируемого роста клеток. В доклинических исследованиях при сравнении эффектов клеточной терапии на основе МСК и бесклеточной терапии на основе ВВ/экзосом, полученных из МСК, продемонстрированы схожие терапевтические результаты и даже в некоторых случаях терапия экзосомами превосходила МСК [64-66].

Экзосомная терапия как неинвазивный подход показала многообещающие результаты в отношении способности регенерировать поврежденные сперматозоиды и лечения астенозооспермии путем их репарации молекулами и подавлением действия активных форм кислорода (АФК) [67].



Роль экзосом в мужской репродукции в последнее время привлекает все больше внимания. Так исследование *R. Zhankina* и соавт. (2022) [47], описанное выше, показало возможность использования кондиционированной среды, содержащей внеклеточные везикулы с МСК. Сперматогенез был эффективно восстановлен в семенных канальцах мышей с азооспермией. Кондиционная среда культуры стволовых клеток костного мозга и связанные с ним внеклеточные экзосомы могут индуцировать восстановление зародышевого слоя в модели необструктивной азооспермии. Результаты гистологического исследования и проточной цитометрии четко продемонстрировали, что восстановление сперматогенеза с использованием МСК происходит по двум параллельным механизмам. Во-первых, восстановление поврежденных сперматогоний и, во-вторых, дифференцировка в сперматогонии в результате воздействия их кондиционированной среды [47].

Согласно исследованиям на животных, экзосомы, по-видимому, являются многообещающим способом восстановления сперматогенеза и регенерации спермы. Экзосомы, полученные из амниотической жидкости, способствуют активации сперматогенеза; восстановлению концентрации, подвижности, нормальной морфологии сперматозоидов; восстановлению концентрации сперматогоний и сперматоцитов; удлинению сперматид до контрольной группы без моделирования необструктивной формы азооспермии (НОА) [68].

Сперматогониальные стволовые клетки

В 2008 году *D.J. McLean* предложил применение сперматогониальных клеток в лечении мужского бесплодия [69]. Сперматогониальные стволовые клетки представляют собой небольшую группу клеток яичек, находящихся в базальной мембране семенных канальцев. Особенностью данного вида клеток является их способность в размеренном митотическом делении с целью балансировки, самообновление и образование экспоненциально возрастающего числа дифференцирующихся зародышевых клеток. SSC являются единственными взрослыми стволовыми клетками, способными передавать гены следующему поколению [70]. *D.J. McLean* (2008) предложил проводить трансплантацию SSC здорового животного в ткань яичек особи, страдающей мужским бесплодием. Несмотря на отсутствие доступных маркеров, позволяющих проводить наблюдение изменений в ткани яичек, содержащей SSC, автор пришел к выводу, что данный вид трансплантации стволовых клеток в перспективе может быть одним из способов лечения мужского бесплодия [69].

За последнее время было получено значительное представление о функциональном потенциале SSC в иницировании сперматогенеза, а также их способности к плюрипотентности для использования в качестве альтернативы ЭСК [71]. Важно отметить, что сперматогониальные стволовые клетки обладают исключительным терапевтическим потенциалом в области вспомогательных репродуктивных технологий при мужском бесплодии [72], для сохранения и/или восстановления фертильности у мальчиков препубертатного возраста, страдающих злокачественным новообразованием и проходящих химиотерапию [73]. В ряде экспериментальных исследований на животных были продемонстрированы результаты трансплантации сперматогониальных стволовых клеток в ткани семенников от донора реципиенту. В части исследований сообщалось об активации сперматогенеза и появлении сперматозоидов в эякуляте реципиента с последующим оплодотворением самок [74-76].

В эксперименте *B.P. Hermann* и соавт. (2012) [77] 12 взрослым макакам и 5 макакам препубертатного периода, у которых анатомия и физиология семенников, эндокринная регуляция и иммунная функция схожи с человеческими, смоделировали бесплодие с бусульфаном. Далее проводили аутологичную и аллогенную трансплантацию SSC в семенные канальцы. Чтобы отличить пересаженные SSC и их потомство от эндогенных клеток, донорские клетки были обработаны лентивирусными векторами. В целом сперматогенез был обнаружен у 11 из 12 взрослых и 5 из 5 препубертатных реципиентов после трансплантации. ПЦР-генотипирование лентивирусной основы показало стабильный донорский сигнал в эякулятах 9 взрослых и 3 препубертатных аутологичных реципиентов. Аллогенная трансплантация привела к химеризму донор-реципиент в сперме у 2/6 взрослых реципиентов [77]. *S. Azizollahi* и соавт. (2016) [78] на модели перекрута яичка оценили эффективность трансплантации SSC. Результаты спермограммы (эпидидимальные сперматозоиды); шкала Джонсена; экспрессия белка 16, содержащий цинковый палец и BTV-домен (Plzf), экспрессия рецептора альфа-1 семейства к нейротрофическому фактору глиальной линии (Gfra-1); постмейотические маркеры (Scp-1, Tekt-1); патоморфологическая картина семенников статистически значимо отличалась от группы с перекрутом, но без лечения. Однако эти показатели были достоверно ниже по отношению к группе контроля [78].

Несмотря на описанные возможности, на сегодняшний день отсутствуют функциональные доказательства восстановления фертильности у человека. Кроме того, практически отсутствуют данные об аспектах безопасности, присущих получению



потомства с гаметам, полученными из замороженных SSC. *N.N. Skaletskiy* и соавт. (2020) [79] провели обзор на тему перспективы применения SSC в лечении мужского бесплодия и пришли к выводу, что, несмотря на эффективность применения данного типа стволовых клеток, отсутствие исследований с участием взрослых мужчин (все доступные исследования были проведены на экспериментальных животных), не позволяет дать объективную оценку будущего применения SSC в лечении мужского бесплодия. Авторы делают акцент на необходимости практического применения SSC в человеческой популяции для получения реальной картины [79].

Техника, методика, протокол, связанные с клиническим применением трансплантации SSC в яички человека, наилучшее место инъекций, кратность инъекций, наиболее эффективный объем клеточного препарата, концентрация клеток и глубина инфузии до сих пор остаются предметом изучения.

Однако следует обратить внимание, что некоторые случаи идиопатического мужского бесплодия могут быть обусловлены дефектом ниши SSC, о которых сообщалось выше. Сперматогенез в яичке человека происходит в сложной микросреде, в которой различные клетки взаимодействуют посредством различных цитокинов. SSC и сперматогонияльные клетки находятся в основании семенных канальцев, где они контактируют с клетками Сертоли и перитубулярными клетками (PTCS). Клетки Сертоли секретируют важные цитокины, такие как фактор роста фибробластов-2, нейротрофический фактор глиальной клеточной линии, активин А, костный морфогенетический белок-4 и фактор стволовых клеток. Клетки Лейдига и другие интерстициальные клетки также участвуют в клеточной коммуникации внутри ниши [80]. Одним из вариантов восстановления ниши может рассматриваться использование МСК, которые могут выступать как предшественники с целью восполнения измененных клеточных компонентов ниши. Результаты исследования *G. Sagaradze* и соавт. (2019) [81] показывают, что МСК стимулирует восстановление ниши SSC. Клетки Лейдига и Сертоли, как и другие компоненты ниши, также были задействованы в процесс регенерации, что безусловно поддерживает нормальное функционирование ниши. В данном случае, учитывая сопоставимые эффекты мезенхимальных стволовых клеток и их секретора, паракринная функция МСК очевидна [81].

Аутоплазма, обогащенная тромбоцитарными факторами роста

Регенеративная медицина также включает в себя использование аутоплазмы, обогащенной

тромбоцитарными факторами роста (АОТ) (platelet-rich plasma, PRP). АОТ — это аутологичная фракция плазмы, в которой количество тромбоцитов в несколько раз превышает физиологический уровень тромбоцитов в периферической крови [82]. В тромбоцитах в высокой концентрации содержатся альфа-гранулы, которые регулируют все стадии сложного процесса заживления ран и влияют на рост и дифференцировку клеток, участвующих в реконструкции тканей, ремоделировании сосудов и костей, ангиогенезе, воспалении и коагуляции. К факторам роста, выделяющимся при разрушении альфа-гранул тромбоцитов, относят тромбоцитарный фактор роста (PDGF), инсулиноподобный фактор роста-1 (IGF-1), эпидермальный фактор роста (EGF), фактор роста гепатоцитов (HGF), трансформирующий фактор роста- β 1 (TGF- β 1), основной фактор роста фибробластов (bFGF) и фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) [83]. За счет факторов роста АОТ обладает многими ключевыми преимуществами, в том числе и отсутствием риска иммунного ответа. Значительным преимуществом с практической точки зрения является простой, быстрый и дешевый метод получения АОТ [84].

На сегодняшний день активно ведутся исследования по возможности использования аутоплазмы, обогащенной тромбоцитарными факторами роста, в качестве терапии мужского бесплодия. В работе *I. Zaporozhan* и соавт. (2014) мышам после токсического поражения половых желез доксорубицином под кожу мошонки выполняли трижды инъекции АОТ. Введение данного клеточного продукта способствовало обновлению микроструктуры яичек и регенерации сперматогенного эпителия у мышей, нормализации количества и функционирования клеток Сертоли [85].

Доклиническое исследование *F. Dehghani* и соавт. (2019) на мышах с бусульфановой моделью, которым вводили в семенные канальцы АОТ, показало значительное увеличение количества сперматогенных стволовых клеток; количество, подвижность и длину хвоста сперматозоидов; уровень тестостерона крови. Однако отсутствовали изменения в количестве клеток Сертоли и Лейдига, длине семенных канальцев, объеме яичка и толщину зародышевого эпителия [86].

C.A. Sekerci и соавт. (2017) продемонстрировали защитную функцию АОТ при ишемически-реперфузионном повреждении яичек крыс. Защитные свойства оценивали по активности таких ферментов, как малоновый диальдегид (MDA), глутатион (GSH), супероксиддисмутаза (SOD), миелопероксидаза (MPO), трансформирующий фактор роста- β 1 (TGF- β 1) и каспаза-3. В результате исследования обнаружено, что АОТ ингибирует инфильтрацию нейтрофильными



клетками и окислительный стресс, а также повышает активность антиоксидантной системы [87].

Другой важной функцией АОТ является возможность восстановления параметров нативной спермы после воздействия на нее активных форм кислорода. Так в работе *R. Bader* и соавт. (2020) у мужчин брали эякулят и подвергали его действию H_2O_2 . В результате действия пероксида водорода отмечалась вакуолизация и фрагментация ДНК сперматозоидов, а также снижение их прогрессирующей и общей подвижности. После обработки образцов АОТ (2, 5, 10%) значимое улучшение изучаемых параметров отмечалось в основном при 2% АОТ, что считается наилучшей концентрацией для достижения положительного эффекта на параметры спермы. После добавления в сперму АОТ было зафиксировано следующее: снижение процента АФК-позитивных клеток, вакуолизированных сперматозоидов, процента сперматозоидов с фрагментированной ДНК; активация антиоксидантной системы [88].

Введение АОТ интратестикулярно у мужчин с необструктивной азооспермией на сегодняшний день находится на этапе клинических исследований. *R. Al-Nasser* и соавт. (2018) [89] использовали АОТ в качестве терапии НОА у мужчин. Никаких побочных явлений зафиксировано не было. Из 71 пациента только у двух наблюдалось восстановление нормального функционирования яичек после АОТ-терапии, у всех пациентов отмечалось увеличение уровня ФСГ по окончании терапии ($p > 0,05$) [89].

Уже в 2021 году *T. Gudelci* и соавт. (2021) [90] исследовали результаты интратестикулярных инъекций АОТ у 55 мужчин с НОА с одной безуспешной микрохирургической биопсией яичка (mTESE) в анамнезе (группа 1) и у 36 мужчин с двумя и более безуспешными mTESE в анамнезе (группа 2). При контрольной биопсии у 12 мужчин (21,8%) в группе 1 и у 3 мужчин (8,3%) в группе 2 были обнаружены сперматозоиды. Оплодотворение было достигнуто у 10/12 (83,3%) пар в группе 1 и у 2/3 (66,6%) пар в группе 2. В группе 1 в 6 случаях из 9 (66,6%) перенос эмбриона привел к устойчивой имплантации/живорождению, в группе 2 — в 1 случае из 2 (50%). В заключение авторы предлагают в перспективе рассмотреть АОТ как альтернативный метод лечения НОА с проведением рандомизированных контролируемых исследований [90].

Другая гипотеза была также изучена — инкубация сперматозоидов после эякуляции совместно с добавлением АОТ улучшила показатели спермы в сравнении с их инкубированием в обычной среде. Так результаты исследования *J. Angellee* и соавт. (2021) [91] показали, что образцы спермы, инкубированные с клеточным препаратом, были зна-

чительно лучшего качества с точки зрения концентрации сперматозоидов ($28,40 \pm 17,66$ млн/мл против $35,74 \pm 21,37$ млн/мл), подвижности ($37,90 \pm 15,43\%$ против $97,40 \pm 1,17\%$), прогрессирующей подвижности ($0,30 \pm 0,65\%$ против $23,92 \pm 14,75\%$), количества морфологически нормальных сперматозоидов ($2,65 \pm 0,66\%$ против $4,55 \pm 0,99\%$) и процент сперматозоидов с хорошим шансом оплодотворения (65% против 97,5%) [91].

Несколько исследований демонстрируют улучшение параметров и качества спермы после криоконсервации с добавлением в среду АОТ [92]. Однако оптимальная концентрация АОТ при использовании ее в момент криоконсервации до сих пор остается неопределенной.

M. Saleh и соавт. (2023) [94] изучили применение АОТ при добавлении к SSC для пролиферации и дифференцировки. Обнаружено, что компоненты экстрацеллюлярного матрикса сохранились во время процесса децеллюляризации. В группе с добавлением АОТ Экспрессия регулятора апоптоза Bcl-2 и BAX, гена PLZF, белка синаптомембранного комплекса SCP3 не изменилась, в то время как экспрессия протамина 2 (PRM2) значительно возросла, а также жизнеспособность клеток была выше [94].

В Турции зарегистрировано клиническое исследование (NCT04237779), где изучались результаты интратестикулярного введения АОТ пациентам, у которых, по данным серии спермограмм и mTESE, верифицирована необструктивная азооспермия, или криптозооспермия. Набор пациентов завершен, однако результаты клинического исследования не опубликованы [95].

Проведено два клинических исследования по оценке влияния на сперматогенез интратестикулярных инъекций АОТ и экстракорпоральной ударно-волновой терапии (ЭУВТ) на яички и придатки яичек [96-98]. В первом исследовании было включено 14 пациентов с НОА, где наблюдаемые были распределены в 2 группы: группа 1 с серологической концентрацией ФСГ в пределах референсных значений ($n = 5$); группа 2 с серологической концентрацией ФСГ выше референсных значений ($n = 9$). Побочных явлений зарегистрировано не было. До начала и по окончании лечения (180-й день после последней инъекции АОТ) выполнялась mTESE. По результатам зафиксировано изменение в соотношении коллагенов и эластина в экстрацеллюлярном матриксе. Значимо снизилась плотность коллагена III типа и увеличилась плотность коллагена I типа ($p < 0,05$), что соответствует концентрации в яичке здорового человека. При контрольном обследовании в группе 1:



увеличилась концентрация ФСГ ($p < 0,05$) и ЛГ ($p = 0,025$), уменьшилась концентрация общего тестостерона ($p > 0,05$); S. Johnsen (MJS) до лечения 2 балла, после — 4 балла ($p < 0,05$); концентрация клеток Лейдига увеличилась с 2 до 4 баллов ($p < 0,05$). В группе 2 при контрольном обследовании уменьшилась концентрация ФСГ ($p < 0,05$), ЛГ не изменился ($p > 0,05$), увеличилась концентрация общего тестостерона ($p > 0,05$); S. Johnsen (MJS) до лечения 2 балла, после — 4 балла ($p < 0,05$); концентрация клеток Лейдига увеличилась с 2 до 5 баллов ($p < 0,05$). При контрольной mTESE найдены сперматозоиды в группе 1 у 1 (20%) мужчины, в группе 2 — у 4 мужчин (44,4%) [96–98].

Во втором исследовании 30 пациентов с нарушениями в спермограмме (кроме азооспермии, криптозооспермии) распределили на 2 группы: группа 1 с серологической концентрацией ФСГ в пределах референсных значений ($n = 23$); группа 2 с серологической концентрацией ФСГ выше референсных значений ($n = 7$). При контрольном обследовании в 1 группе: увеличилась концентрация ФСГ ($p < 0,05$) и ЛГ ($p > 0,05$), увеличилась концентрация общего тестостерона ($p < 0,05$). В группе 2 при контрольном обследовании: уменьшилась концентрация ФСГ ($p > 0,05$) и ЛГ ($p > 0,05$), увеличилась концентрация общего тестостерона ($p > 0,05$). По данным спермограммы: концентрация сперматозоидов на 1 мл эякулята увеличилась во всех группах ($p > 0,05$); возрастание процента прогрессивно-подвижных сперматозоидов в первой группе ($p < 0,05$) и во второй ($p > 0,05$); процент морфологически нормальных сперматозоидов возрос в обеих группах ($p > 0,05$); объем эякулята без значимой динамики в обеих группах ($p > 0,05$). Комбинированная терапия снижает оксидативный стресс: снизилась концентрация сперматозоидов с фрагментированной ДНК в группах 1 ($p < 0,05$) и 2 ($p > 0,05$); также в обеих группах значимо уменьшилось количество АФК ($p < 0,05$) [96–98].

Заключение

Анализ приведенных мировых экспериментальных и клинических исследований позволяет сделать выводы о том, что регенеративная медицина является перспективным направлением в лечении мужского бесплодия. Несмотря на разнообразие клеточных продуктов и источников их получения, на данный момент более перспективным выглядит применение взрослых аутологичных стволовых клеток, таких как МСК жировой ткани, поскольку она является минимально манипулированным клеточным продуктом, менее дорогостоящим, обладающим мощным иммуномодулирующим эффектом, большим пролиферативным потенциалом и секретирующим значительное количество факторов роста и цитокинов. Стоит отметить регенерирующее влияние данного клеточного продукта на сперматогенный эпителий за счет влияния на нишу стволовых клеток, клетки Лейдига, снижение процесса перекисного окисления липидов, в том числе у пациентов с необструктивной формой азооспермии. Схожую эффективность и механизмы действия демонстрирует применение АОТ, которая содержит высокие концентрации различных факторов роста, необходимых для сперматогенеза и стероидогенеза. Важно, что не в одном из проведенных исследований каких-либо значимых нежелательных явлений отмечено не было. Таким образом, несмотря на наличие большого количества исследований, требуется проведение дальнейших как экспериментальных, так и клинических исследований для подтверждения не только эффективности, но и безопасности модификаций клеточных продуктов для лечения различных типов мужского бесплодия. Нашим научным коллективом инициировано исследование по оценке безопасности и эффективности применения мезенхимальных стволовых клеток для лечения мужского бесплодия.

Таблица 1. Сводная таблица по клеточным продуктам и существующих исследований

Table 1. Summary table on cellular products and existing studies

Тип клеток Cell Type	Основной эффект The main effect	Тип исследования Type of study	Литература Reference
Эмбриональные стволовые клетки (ESCs) <i>Embryonic Stem Cells (ESCs)</i>	Дифференцировка в первичные половые клетки и мейоз дают начало мужским и женским половым гаметам <i>Differentiation into primary germ cells and through meiosis give rise to male and female sexual gametes</i>	Мыши, клеточные культуры <i>Mice, cell cultures</i>	Geijsen N. и соавт (2004) [12]. Zhao X.Y. и соавт. (2010) [13]. Nayernia K. и соавт (2006) [14]. Geijsen N. et al. (2004) [12]. Zhao X.Y. et al. (2010) [13]. Nayernia K. et al. (2006) [14].



Тип клеток Cell Type		Основной эффект The main effect	Тип исследования Type of study	Литература Reference
Индукцированные плюрипотентные стволовые клетки (iPSCs) <i>Induced pluripotent stem cells (iPSCs)</i>		Дифференцировка в эмбриональные тела, SSC, половые клетки <i>Differentiation into embryonic bodies, SSC, germ cells</i>	Мыши, клеточная культура <i>Mice, cell cultures</i>	Zhu. Y. и соавт. (2012) [22]. Cai H. и соавт. (2013) [23]. Volarevic V. и соавт. (2014) [21]. Yamashiro C. и соавт. (2018) [24]. Zhu. Y. et al. (2012) [22]. Cai H. et al. (2013) [23]. Volarevic V. et al. (2014) [21]. Yamashiro C. et al. (2018) [24].
Фетальные стволовые клетки <i>Fetal stem cells</i>		Культивирование ткани яичек. Регенерация тестикулярной ткани Восстановление гистоархитектоники семенных канальцев Образование зрелых сперматозоидов <i>Cultivation of testicular tissue. Regeneration of testicular tissue. Restoration of the tissue composition of the seminal tubules. Formation of mature spermatozoa</i>	Мыши, клеточная культура <i>Mice, cell cultures</i>	Amidi F. и соавт. (2015) [26]. Chen H. и соавт. (2015) [28]. Abd Allah S.H. и соавт. (2017) [27]. Amidi F. et al. (2015) [26]. Chen H. et al. (2015) [28]. Abd Allah S.H. et al. (2017) [27].
Взрослые аутологичные стволовые клетки <i>Adult autologous stem cells</i>	МСК из костного мозга BM-MSCs) <i>Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells (BM-MSCs)</i>	Дифференцировка в сперматозоиды или слияние с эндогенными MSCs для восстановления сперматогенеза и восстановления сперматогенеза посредством иммуномодулирующего и паракринного эффекта за счет секреции факторов роста и цитокинов Регулирование гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси <i>Differentiation into spermatozoa or connect with endogenous MSCs to restore spermatogenesis and restore spermatogenesis through immunomodulatory and paracrine effects due to the secretion of growth factors and cytokines Regulation of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis</i>	Мыши, клеточные культуры, морские свинки, крысы <i>Mice, cell cultures, guinea pigs, rats</i>	Tamadon A. и соавт. (2015) [48]. Hassan A.I. и соавт. (2014) [41]. Ghasemzadeh-Hasankolaei M. и соавт. (2016) [39]. Zhang D. и соавт. (2014) [40]. Monsef M. и соавт. (2013) [36]. Vahdati A. и соавт. (2017) [37]. Sherif I.O. и соавт. (2018) [45]. Hajihoseini M. и соавт. (2017) [49]. Aghamir, S.M. и соавт. (2014) [50]. Zhankina R. и соавт. (2022) [47]. Xu L. и соавт. (2017) [51]. Tamadon A. et al. (2015) [48]. Hassan A.I. et al. (2014) [41]. Ghasemzadeh-Hasankolaei M. et al. (2016) [39]. Zhang D. et al. (2014) [40]. Monsef M. et al. (2013) [36]. Vahdati A. et al. (2017) [37]. Sherif I.O. et al. (2018) [45]. Hajihoseini M. et al. (2017) [49]. Aghamir, S.M. et al. (2014) [50]. Zhankina R. et al. (2022) [47]. Xu L. et al. (2017) [51].
	МСК из жировой ткани			Cakici C. и соавт. (2013) [38]. Hsiao C.H. и соавт. (2015) [44]. Karimaghai N. и соавт. (2018) [42]. Mehrabani D. и соавт. (2015) [43]. Ganjibakhsh M. и соавт. (2022) [46]. Cakici C. et al. (2013) [38].



Тип клеток Cell Type	Основной эффект The main effect	Тип исследования Type of study	Литература Reference
<i>Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells (AT-MSCs)</i>			Hsiao C.H. et al. (2015) [44]. Karimaghai N. et al. (2018) [42]. Mehrabani D. et al. (2015) [43]. Ganjibakhsh M. et al. (2022) [46].
Сперматогониальные стволовые клетки (SSCs) <i>Spermatogonial Stem Cells (SSCs)</i>	Стимулирование сперматогенеза, восстановление функции тестикулярной ткани, восстановление сперматогенеза, дифференцировка в мужские гаметы и восстановление фертильности после трансплантации в семенные каналцы <i>Stimulation and restoration of spermatogenesis, restoration of testicular tissue function, differentiation into male gametes and restoration of fertility after transplantation into the seminal tubules</i>	Мыши, клеточные культуры, морские свинки, крысы <i>Mice, cell cultures, guinea pigs, rats</i>	Honaramooz A. и соавт. (2003) [74]. McLean D.J. (2008) [69]. Herrid M. и соавт. (2009) [75]. Hermann B.P. и соавт. (2012) [77]. Kanatsu-Shinohara M. и соавт. (2016) [76]. Azizollahi S. и соавт. (2016) [78]. Ibtisham F., Honaramooz A. (2020) [70]. Honaramooz A. et al. (2003) [74]. McLean D.J. (2008) [69]. Herrid M. et al. (2009) [75]. Hermann B.P. et al. (2012) [77]. Kanatsu-Shinohara M. et al. (2016) [76]. Azizollahi S. et al. (2016) [78]. Ibtisham F., Honaramooz A. (2020) [70].
Аутоплазма, обогащенная тромбоцитарными факторами роста <i>Platelet-rich plasma</i>	Восстановление функции тестикулярной ткани, восстановление сперматогенеза, нормализации количества и функционирования клеток Сертоли, снижение оксидативного стресса, снижение концентрации сперматозоидов с фрагментированной ДНК <i>Restoration of testicular tissue function, restoration of spermatogenesis, normalization of the number and functioning of Sertoli cells, reduction of oxidative stress, reduction of sperm concentration with fragmented DNA</i>	Мыши, клеточные культуры, люди <i>Mice, cell cultures, human</i>	Zaporozhan V. и соавт. (2014) [85]. Dehghani F. и соавт. (2019) [86]. Sekerci C.A. и соавт. (2017) [87]. Bader R. и соавт. (2020) [88]. Al-Nasser R. и соавт. (2018) [89]. Gudelci T. и соавт. (2021) [90]. Angellee J. и соавт. (2021) [91]. Mirzaei J. и соавт. (2021) [92]. Епифанова М.В. и соавт. (2021) [97-98]. Zaporozhan V. et al. (2014) [85]. Dehghani F. et al. (2019) [86]. Sekerci C.A. et al. (2017) [87]. Bader R. et al. (2020) [88]. Al-Nasser R. et al. (2018) [89]. Gudelci T. et al. (2021) [90]. Angellee J. et al. (2021) [91]. Mirzaei J. et al. (2021) [92]. Epifanova M.V. et al. (2021) [97-98].



Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

1. EAU Guidelines. Edn. presented at the EAU Annual Congress Milan 2023. ISBN 978-94-92671-19-6.
2. Hajiesmailpoor A., Emami P., Kondori B.J. et al. Stem cell therapy as a recent advanced approach in male infertility. *Tissue Cell* 2021;73:101634. DOI:10.1016/j.tice.2021.101634.
3. Agarwal A., Baskaran S., Parekh N. et al. Male infertility. *Lancet* 2021;397(10271):319-333. DOI:10.1016/S0140-6736(20)32667-2.
4. Mao A.S., Mooney D.J. Regenerative medicine: Current therapies and future directions. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015;112(47):14452-9. DOI: 10.1073/pnas.1508520112. PMID: 26598661; PMCID: PMC4664309.
5. Galipeau J., Sensebe L. Mesenchymal stromal cells: clinical challenges and therapeutic opportunities. *Cell Stem Cell* 2018;22(6):824-833. DOI: 10.1016/j.stem.2018.05.004.
6. Squillaro T., Peluso G., Galderisi U. Clinical trials with mesenchymal stem cells: an update. *Cell Transplant*. 2016;25(5):829-848. DOI: 10.3727/096368915X689622.
7. Wang J., Liu C., Fujino M. et al. Stem cells as a resource for treatment of infertility-related diseases. *Curr. Mol. Med* 2019;19:539-546. DOI: 10.2174/1566524019666190709172636.
8. Dunlop C.E., Telfer E.E., Anderson R.A. Ovarian stem cells—Potential roles in infertility treatment and fertility preservation. *Maturitas*. 2013;76:279-283. DOI: 10.1016/j.maturitas.2013.04.017.
9. Pourmoghadam Z., Aghebati-Maleki L., Motalebzadeh M. et al. Current approaches for the treatment of male infertility with stem cell therapy. *J Cell Physiol* 2018;233(10):6455-6469.
10. Lorzadeh N., Kazemirad N. Embryonic Stem Cells and Infertility. *Am J Perinatol* 2018;35(10):925-930. DOI:10.1055/s-0038-1632367.
11. Saha S., Roy P., Corbitt C. et al. Application of Stem Cell Therapy for Infertility. *Cells* 2021;10(7):1613. DOI:10.3390/cells10071613.
12. Geijsen N., Horoschak M., Kim K. et al. Derivation of embryonic germ cells and male gametes from embryonic stem cells. *Nature* 2004;427(6970):148-154.
13. Zhao X.Y., Li W., Lv Z. et al. Viable fertile mice generated from fully pluripotent iPS cells derived from adult somatic cells. *Stem Cell Rev* 2010;6(03):390-397.
14. Nayernia K., Nolte J., Michelmann H.W. et al. In vitro-differentiated embryonic stem cells give rise to male gametes that can generate offspring mice. *Dev Cell* 2006;11(01):125-132.
15. Takahashi K., Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006;126:663-676. DOI: 10.1016/j.cell.2006.07.024.
16. Fang F., Li Z., Zhao Q. et al. Human induced pluripotent stem cells and male infertility: An overview of current progress and perspectives. *Hum. Reprod* 2018;33:188-195. DOI: 10.1093/humrep/dex369.
17. Eguizabal C., Montserrat N., Vassena R. et al. Complete meiosis from human induced pluripotent stem cells. *Stem Cells* 2011;29:1186-1195. DOI: 10.1002/stem.672.
18. Ramathal C., Durruthy-Durruthy J., Sukhwani M. et al. Fate of iPSCs derived from azoospermic and fertile men following xenotransplantation to murine seminiferous tubules. *Cell Rep* 2014;7:1284-1297. DOI: 10.1016/j.celrep.2014.03.067.
19. Irie N., Weinberger L., Tang W.W. et al. SOX17 is a critical specifier of human primordial germ cell fate. *Cell* 2015;160:253-268. DOI: 10.1016/j.cell.2014.12.013.
20. Sasaki K., Yokobayashi S., Nakamura T. et al. Robust In Vitro induction of human germ cell fate from pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell* 2015;17:178-194. DOI: 10.1016/j.stem.2015.06.014.
21. Volarevic V., Bojic S., Nurkovic J. et al. Stem cells as new agents for the treatment of infertility: Current and future perspectives and challenges. *Biomed Res Int* 2014;2014:507234. DOI: 10.1155/2014/507234.
22. Zhu Y., Hu H.-L., Li P. et al. Generation of male germ cells from induced pluripotent stem cells (iPS cells): An in vitro and in vivo study. *Asian J Androl* 2012;14(4):574-9. DOI: 10.1038/aja.2012.3.
23. Cai H., Xia X., Wang L. et al. In vitro and in vivo differentiation of induced pluripotent stem cells into male germ cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2013;433(3):286-291. DOI:10.1016/j.bbrc.2013.02.107.
24. Yamashiro C., Sasaki K., Yabuta Y. et al. Generation of human oogonia from induced pluripotent stem cells In Vitro. *Science* 2018;362:356-360. DOI: 10.1126/science.aat1674.
25. Lee A.S., Tang C., Rao M.S. et al. Tumorigenicity as a clinical hurdle for pluripotent stem cell therapies. *Nat Med* 2013;19(8):998-1004. DOI:10.1038/nm.3267.
26. Amidi F., Ataie Nejad N., Agha Hoseini M. et al. In vitro differentiation process of human Wharton's jelly mesenchymal stem cells to male germ cells in the presence of gonadal and non-gonadal conditioned media with retinoic acid. *In Vitro Cell Dev Biol Anim* 2015;51(10): 1093-1101. DOI: 10.1007/s11626-015-9929-4.
27. Abd Allah S.H., Pasha H.F., Abdelrahman A.A. et al. Molecular effect of human umbilical cord blood CD34-positive and CD34-negative stem cells and their conjugate in azoospermic mice. *Mol Cell Biochem* 2017;428(1-2):179-191. DOI:10.1007/s11010-016-2928-2.
28. Chen H., Tang Q.L., Wu X.Y. et al. Differentiation of human umbilical cord mesenchymal stem cells into germ-like cells in mouse seminiferous tubules. *Mol Med Rep* 2015;12(1):819-828. DOI:10.3892/mmr.2015.3528.
29. Tsekouras A., Mantas D., Tsilimigras D.I. et al. Comparison of the Viability and Yield of Adipose-Derived Stem Cells (ASCs) from Different Donor Areas. *In Vivo* 2017;31(6):1229-1234. DOI: 10.21873/in vivo.11196.
30. Bruder S.P., Jaiswal N., Haynesworth S.E. Growth kinetics, self-renewal, and the osteogenic potential of purified human mesenchymal stem cells during extensive subcultivation and following cryopreservation. *J Cell Biochem* 1997;64(2):278-94. DOI: 10.1002/(sici)1097-4644(199702)64:2<278::aid-jcb11>3.0.co;2-f.
31. Pittenger M.F., Mackay A.M., Beck S.C. et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999;284(5411):143-7. DOI: 10.1126/science.284.5411.143.
32. Vangsness C.T. Jr., Sternberg H., Harris L. Umbilical Cord Tissue Offers the Greatest Number of Harvestable Mesenchymal Stem Cells for Research and Clinical Application: A Literature Review of Different Harvest Sites. *Arthroscopy* 2015;31(9):1836-43. DOI: 10.1016/j.arthro.2015.03.014.
33. Hernigou P., Homma Y., Flouzat Lachaniette C.H. et al. Benefits of small volume and small syringe for bone marrow aspirations of mesenchymal stem cells. *Int Orthop* 2013;37(11):2279-87. DOI: 10.1007/s00264-013-2017-z.
34. Li C.Y., Wu X.Y. Tong J.B. et al. Comparative analysis of human mesenchymal stem cells from bone marrow and adipose tissue under xeno-free conditions for cell therapy. *Stem Cell Res Ther* 2015;6(1):55. DOI:10.1186/s13287-015-0066-5.
35. Tamadon A., Zhan-Byrbekuly U., Kaigaliyev I. et al. Mesenchymal stem cell therapy of male infertility. *Male Reproductive Health, IntechOpen*. 2019;105-112. DOI: 10.5772/intechopen.88343
36. Monsef M., Fereydowni B., Rohani L. et al. Mesenchymal stem cells repair germinal cells of seminiferous tubules of sterile rats. *Iran J Reprod Med* 2013;11:537-44.
37. Vahdati A., Fathi A., Hajihoseini M. et al. The regenerative effect of bone marrow-derived stem cells in spermatogenesis of infertile hamster. *World journal of plastic surgery* 2017;6(1):18-25.
38. Cakici C., Buyrukcu B., Duruksu G. et al. Recovery of fertility in azoospermia rats after injection of adipose-tissue-derived mesenchymal stem cells: the sperm generation. *Biomed Res Int* 2013;2013:1-18.
39. Ghasemzadeh-Hasankolaei M., Batavani R., Eslaminejad M.B. et al. Transplantation of autologous bone marrow mesenchymal



- stem cells into the testes of infertile male rats and new germ cell formation. *Int J Stem Cells* 2016;9:250–63. DOI:10.15283/ijsc16010.
40. Zhang D., Liu X., Peng J. et al. Potential spermatogenesis recovery with bone marrow mesenchymal stem cells in an azoospermic rat model. *Int J Mol Sci* 2014;15:13151–65. DOI: 10.3390/ijms150813151.
41. Hassan A.I., Alam S.S. Evaluation of mesenchymal stem cells in treatment of infertility in male rats. *Stem Cell Res Ther* 2014;5:131. DOI:10.1186/scrt521.
42. Karimaghani N., Tamadon A., Rahmanifar F. et al. Spermatogenesis after transplantation of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in busulfan-induced azoospermic hamster. *Iran J Basic Med Sci* 2018;21:660.
43. Mehrabani D., Hassanshahi M.A., Tamadon A. et al. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells repair germinal cells of seminiferous tubules of busulfan-induced azoospermic rats. *J Hum Reprod Sci* 2015;8(2):103–110. DOI:10.4103/0974-1208.158618.
44. Hsiao C.H., Ji A.T., Chang C.C. et al. Local injection of mesenchymal stem cells protects testicular torsion-induced germ cell injury. *Stem Cell Res Ther* 2015;6(1):113. DOI:10.1186/s13287-015-0079-0.
45. Sherif I.O., Sabry D., Abdel-Aziz A. et al. The role of mesenchymal stem cells in chemotherapy-induced gonadotoxicity. *Stem Cell Res Ther* 2018;9(1):196. DOI:10.1186/s13287-018-0946-6.
46. Ganjibakhsh M., Mehraein F., Koruji M. et al. The therapeutic potential of adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells in the treatment of busulfan-induced azoospermic mice. *J Assist Reprod Genet* 2022;39(1):153–163. DOI:10.1007/s10815-021-02309-8.
47. Zhankina R., Afshar A., Farrar Z. et al. Restoration of spermatogenesis in azoospermic mice by bone marrow mesenchymal stromal/stem cells conditioned medium, 04 February 2022, PREPRINT (Version 2) available at Research Square DOI:10.21203/rs.3.rs-169243/v2.
48. Tamadon A., Mehrabani D., Rahmanifar F. et al. Induction of Spermatogenesis by Bone Marrow-derived Mesenchymal Stem Cells in Busulfan-induced Azoospermia in Hamster. *Int J Stem Cells* 2015;8(2):134–145. DOI:10.15283/ijsc.2015.8.2.134.
49. Hajihoseini M., Vahdati A., Ebrahim Hosseini S. et al. Induction of spermatogenesis after stem cell therapy of azoospermic guinea pigs. *Vet Arh* 2017;87(3): 333–350.
50. Aghamir S.M., Salavati A., Yousefie R. et al. Does bone marrow-derived mesenchymal stem cell transfusion prevent antisperm antibody production after traumatic testis rupture? *Urology* 2014;84(1): 82–86.
51. Xu L., Liu Y., Sun Y. et al. Tissue source determines the differentiation potentials of mesenchymal stem cells: a comparative study of human mesenchymal stem cells from bone marrow and adipose tissue. *Stem Cell Res Ther* 2017;8(1):275.
52. Bakry S. MSCs For Treatment of Azoospermic Patients. Доступно по: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT02025270>.
53. AlZoubi A. Intra-Testicular Transplantation of Autologous Stem Cells for Treatment of Non-Obstructive Azoospermia Male Infertility. Доступно по: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT02641769>.
54. Gadalla K.A. Intra Testicular Artery Injection of Bone Marrow Stem Cell in Management of Azoospermia. Доступно по: <https://classic.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02008799>.
55. Elshaer H.S. Testicular Injection of Autologous Stem Cells for Treatment of Patients With Azoospermia. Доступно по: <https://classic.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02041910>.
56. Volchkov S. Autologous Adipose-Derived Adult Stromal Vascular Cell Administration for Male Patients With Infertility. Доступно по: <https://classic.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03762967>.
57. Gadalla K.A. Sperm Production in Klinefelter Syndrome Patients After Mesenchymal Stem Cell Injection. Доступно по: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT02414295>.
58. Ryu B.Y., Orwig K.E., Oatley J.M. et al. Effects of aging and niche microenvironment on spermatogonial stem cell self-renewal. *Stem Cells* 2006;24(6):1505–1511. DOI:10.1634/stemcells.2005-0580.
59. Vlaković S., Cukuranović R., Bjelaković M.D. et al. Possible therapeutic use of spermatogonial stem cells in the treatment of male infertility: a brief overview. *Scientific World Journal* 2012;2012:374151. DOI: 10.1100/2012/374151.
60. Melo-Narváez M.C., Stegmayr J., Wagner D.E. et al. Lung regeneration: implications of the diseased niche and ageing. *Eur Respir Rev* 2020;29:200222. DOI: 10.1183/16000617.2022-2020.
61. Shao H., Im H. New technologies for analysis of extracellular vesicles. *Chem Rev* 2018;118(4):1917–1950. DOI: 10.1021/acs.chemrev.7b00534.
62. Heldring N., Mager I., Wood M.J.A. et al. Therapeutic potential of multipotent mesenchymal stromal cells and their extracellular vesicles. *Hum Gene Ther* 2015;26(8):506–517. DOI: 10.1089/hum.2015.072.
63. Mendt M., Rezvani K., Shpall E. Mesenchymal stem cell-derived exosomes for clinical use. *Bone Marrow Transplant* 2019;54:789–792. DOI: 10.1038/s41409-019-0616-z.
64. Shao L.B., Zhang Y., Lan B.B. et al. MiRNA-sequence indicates that mesenchymal stem cells and exosomes have similar mechanism to enhance cardiac repair. *Biomed Res Int* 2017 DOI: 10.1155/2017/4150705.
65. Pelizzo G., Avanzini M.A., Cornaglia A.I. et al. Extracellular vesicles derived from mesenchymal cells: perspective treatment for cutaneous wound healing in pediatrics. *Regen Med* 2018;13(4):385–94. DOI: 10.2217/rme-2018-0001.
66. Clark K., Zhang S., Barthe S. et al. Placental mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles promote myelin regeneration in an animal model of multiple sclerosis. *Cells* 2019;8(12):1497. DOI: 10.3390/cells8121497.
67. Kharazi U., Badalzadeh R. A review on the stem cell therapy and an introduction to exosomes as a new tool in reproductive medicine. *Reprod Biol* 2020;20(4):447–459. DOI:10.1016/j.repbio.2020.07.002.
68. Mobarak H., Heidarpour M., Rahbarghazi R. et al. Amniotic fluid-derived exosomes improved spermatogenesis in a rat model of azoospermia. *Life Sci* 2021;274:119336. DOI:10.1016/j.lfs.2021.119336.
69. McLean D.J. Spermatogonial stem cell transplantation, testicular function, and restoration of male fertility in mice. *Methods Mol Biol* 2008;450:149–162. DOI:10.1007/978-1-60327-214-8_11.
70. Ibtisham F., Honaramooz A. Spermatogonial Stem Cells for In Vitro Spermatogenesis and In Vivo Restoration of Fertility. *Cells* 2020;9(3):745. DOI:10.3390/cells9030745.
71. Kubota H., Brinster R.L. Spermatogonial stem cells. *Biol Reprod* 2018;99(1):52–74. DOI:10.1093/biolre/boy077.
72. Forbes C.M., Flannigan R., Schlegel P.N. Spermatogonial Stem Cell Transplantation and Male Infertility: Current Status and Future Directions. *Arab J Urol* 2018;16:171–80.
73. Gul M., Hildorf S., Dong L. et al. Review of Injection Techniques for Spermatogonial Stem Cell Transplantation. *Hum Reprod Update* 2020; 26:368–91.
74. Honaramooz A., Behboodi E., Megee S.O. et al. Fertility and germline transmission of donor haplotype following germ cell transplantation in immunocompetent goats. *Biol Reprod* 2003;69(4):1260–1264. DOI:10.1095/biolreprod.103.018788.
75. Herrid M., Olejnik J., Jackson M. et al. Irradiation enhances the efficiency of testicular germ cell transplantation in sheep. *Biol Reprod* 2009;81(5):898–905. DOI:10.1095/biolreprod.109.078279.
76. Kanatsu-Shinohara M., Morimoto H., Shinohara T. Fertility of Male Germline Stem Cells Following Spermatogonial Transplantation in Infertile Mouse Models. *Biol Reprod* 2016;94(5):112. DOI:10.1095/biolreprod.115.137869.
77. Hermann B.P., Sukhwani M., Winkler F. et al. Spermatogonial stem cell transplantation into rhesus testes regenerates spermatogenesis producing functional sperm. *Cell Stem Cell* 2012;11(5):715–726. DOI:10.1016/j.stem.2012.07.017.



78. Azizollahi S., Aflatoonian R., Sadighi Gilani M.A. et al. Alteration of spermatogenesis following spermatogonial stem cells transplantation in testicular torsion-detorsion mice. *J Assist Reprod Genet* 2016;33(6):771-781. DOI:10.1007/s10815-016-0708-2.
79. Skaletsky N.N., Skaletskaya G.N., Sevastianov V. I. Possible use of spermatogonial stem cells in the treatment of male infertility. *Russian Journal of Transplantation and Artificial Organs* 2020;21(4):134 DOI: 10.15825/1995-1191-2019-4-134-142.
80. Liu H.C., Xie Y., Deng C.H. et al. Stem cell-based therapies for fertility preservation in males: Current status and future prospects. *World J Stem Cells* 2020;12(10):1097-1112. DOI:10.4252/wjsc.v12.i10.1097.
81. Sagaradze G.D., Basalova N.A., Efimenko A.Y. et al. Mesenchymal Stromal Cells as Critical Contributors to Tissue Regeneration. *Front Cell Dev Biol* 2020;8:576176. DOI:10.3389/fcell.2020.576176.
82. Teymur H., Tiftikcioglu Y.O., Cavusoglu T. et al. Effect of platelet-rich plasma on reconstruction with nerve autografts. *Kaohsiung J Med Sci* 2017;33(2):69-77. DOI:10.1016/j.kjms.2016.11.005.
83. Cecerska-Heryć E., Goszka M., Serwin N. et al. Applications of the regenerative capacity of platelets in modern medicine. *Cytokine Growth Factor Rev* 2022;64:84-94. DOI:10.1016/j.cytogfr.2021.11.003.
84. Hesseler M.J., Shyam N. Platelet-rich plasma and its utility in medical dermatology: A systematic review. *J Am Acad Dermatol* 2019;81(3):834-846. DOI:10.1016/j.jaad.2019.04.037.
85. Zaporozhan V., Kholodkova O., Kuleshova O. Platelet-rich plasma induces morphofunctional restoration of mice testes following doxorubicin hydrochloride exposure. *J Exp Clin Med* 2014;31:183-187.
86. Dehghani F., Sotoude N., Bordbar H. et al. The use of platelet-rich plasma (PRP) to improve structural impairment of rat testis induced by busulfan. *Platelets* 2019;30(4):513-520. DOI:10.1080/09537104.2018.1478400.
87. Sekerci C.A., Tanidir Y., Sener T.E. et al. Effects of platelet-rich plasma against experimental ischemia/reperfusion injury in rat testis. *J Pediatr Urol* 2017;13(3):317.e1-317.e9. DOI:10.1016/j.jpuro.2016.12.016.
88. Bader R., Ibrahim J.N., Moussa M. et al. In vitro effect of autologous platelet-rich plasma on H2O2-induced oxidative stress in human spermatozoa. *Andrology* 2020;8(1):191-200. DOI:10.1111/andr.12648.
89. Al-Nasser R., Khrait Z., Jamali S. The Effectiveness of Autologous Platelet-Rich Plasma (PRP) in the Therapy of Infertile Men with Non-Obstructive Azoospermia. *J Reprod Med Gynecol Obstet* 2018;3: 011.
90. Gudelci T., Kakiroglu Y., Yuceturk A. et al. The effect of intratesticular injection of autologous platelet rich plasma (PRP) on sperm retrieval rates and ivf outcomes in men with non-obstructive azoospermia and history of failed testicular sperm extraction. *Fertility and Sterility* 2021; 116 (3) Supplement:E331. DOI:10.1016/j.fertnstert.2021.07.893.
91. Angellee J., Novalinda Ginting C., Chiuman L. et al. Role of Platelet-Rich Plasma to Sperm Quality in Male Partners Undergoing Infertility Treatment. *IEEE International Conference on Health, Instrumentation & Measurement, and Natural Sciences (InHeNce)* 2021;1: 1-5. DOI:10.1109/InHeNce52833.2021.9537240.
92. Mirzaei J., Movahedin M., Halvaei I. Plasma-Rich in Growth Factors Ameliorates Detrimental Effects of Cryopreservation on Human Sperm: A Prospective Study. *Cell J* 2022;24(6):330-336. DOI:10.22074/cellj.2022.8119.
93. Yan B., Zhang Y., Tian S. et al. Effect of autologous platelet-rich plasma on human sperm quality during cryopreservation. *Cryobiology* 2021;98:12-16. DOI:10.1016/j.cryobiol.2021.01.009.
94. Salem M., Feizollahi N., Jabari A. et al. Differentiation of human spermatogonial stem cells using a human decellularized testicular scaffold supplemented by platelet-rich plasma. *Artif Organs* 2023;47(5):840-853. DOI: 10.1111/aor.14505.
95. Tiras B. The Effects of Intratesticular PRP Injection in Men With Azoospermia or Cryptozoospermia. Доступно по: <https://classic.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04237779>
96. Епифанова, М.В. Применение технологий регенеративной медицины при сексуальной дисфункции и нарушении фертильности у мужчин : дис. ... д-р. мед. наук : 3.1.13 / Епифанова Майя Владимировна. — М., 2021. — 400 с. [Epifanova M.V. The use of autoplasm enriched with platelet growth factors in the treatment of erectile dysfunction. Dis. ... candidate of medical sciences. Moscow, 2016. 167 p. (In Russ.)].
97. Епифанова М.В., Епифанов А.А., Артеменко С.А. Способ протекции и восстановления сперматогенеза при оперативных вмешательствах на семенном канатике, яичке, придатке яичка. — Патент на изобретение РФ №2735888. Москва. 09 ноября 2020. // Бюллетень No 31 от 09.11.2020 [Epifanova M.V., Epifanov A.A., Artemenko S.A. A method of protection and restoration of spermatogenesis during surgical interventions on the spermatic cord, testicle, and appendage of the testicle. Patent for invention of Russian Federation No. RU2735888 from 09.11.2020. Bull. No. 31 from 09.11.2020 (In Russ.)].
98. Епифанова М.В., Епифанов А.А., Артеменко С.А. Способ лечения мужского бесплодия. — Патент на изобретение РФ №2738543. Москва. 14 декабря 2020. // Бюллетень No 35 от 14.12.2020 [Epifanova M.V., Epifanov A.A., Artemenko S.A. Method of treatment of male infertility. Patent for invention of Russian Federation No. RU2738543 from 14.12.2020. Bull. No. 35 from 14.12.2020 (In Russ.)].

Вклад авторов

М.В. Епифанова: обзор публикаций по теме статьи, сбор данных для анализа, анализ полученных данных, написание и редактирование текста статьи; А.А. Костин: научное редактирование текста статьи, научное консультирование; А.А. Епифанов, К.А. Кириллова: обзор публикаций по теме статьи, сбор данных для анализа, написание текста статьи.

Authors contribution

M.V. Epifanova: review of publications on the topic of the article, data collection for analysis, analysis of the data obtained, article writing; A.A. Kostin: scientific editing of the article, scientific consulting; A.A. Epifanov, K.A. Kirillova: review of publications on the topic of the article, data collection for analysis, article writing.

ORCID авторов/ORCID of authors

М.В. Епифанова / M.V. Epifanova: <https://orcid.org/0000-0002-8398-7255>

А.А. Костин / A.A. Kostin: <https://orcid.org/0000-0002-0792-6012>

А.А. Епифанов / A.A. Epifanov: <https://orcid.org/0000-0003-4111-6037>

К.А. Кириллова / K.A. Kirillova: <https://orcid.org/0000-0002-8213-5608>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Не выполнялось.

Funding. None.