УДК 616.69-008.6:615.45:617-089
https://doi.org/10.21886/2308-6424-2023-11-2-28-36

Фармакологическая и хирургическая экспериментальные модели индукции нарушения сперматогенеза

© Майя В. Епифанова [1], Андрей А. Костин [1], Ольга Ю. Малинина [2], Сергей А. Артеменко [1], Александр А. Епифанов [3]

[1] Российский университет дружбы народов [117198, Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6]
[2] ГБУЗ «ГКБ № 29 им. Н.Э. Баумана» [111020, Россия, г. Москва, Госпитальная площадь, д. 2]
[3] ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России [127473, Россия, г. Москва, ул. Делегатская, 20, стр. 1]

Аннотация

Введение. Экспериментальная индукция нарушения сперматогенеза преимущественно возможна физическими, фармакологическими методами. Однако не все методы способны вызывать необструктивную азооспермию.

Цель исследования. Оценить и сравнить эффективность индукции нарушения сперматогенеза на моделях крыс путём наложения лигатур на семенные канатики и введения цисплатина.

Материалы и методы. 73 половозрелые особи самцов крыс стока Wistar были разделены на две исследуемые и одну контрольную (n = 9) группы: группа 1 (n = 27) с наложением лигатуры на семенной канатик на 12 (n = 9), 24 (n = 9), 36 часах (n = 9); группа 2 (n = 37) с пятикратным внутрибрюшинным введением цисплатина в концентрациях 5 мг/кг, 3 мг/кг, 1 мг/кг. Для оценки эффективности моделей на 0-й, 7-й, 14-й, 28-й дни после последнего дня индукции нарушения сперматогенеза выполняли исследование эпидидимальной спермы, клинического анализа крови, уровня общего тестостерона крови, патоморфологическое исследование ткани семенников, массы тела, массы органов репродуктивной системы.

Результаты. Наложения лигатур на семенные канатики не оказывали отрицательного влияния на общее состояние животных ($p < 0,05$), клинический анализ крови ($p < 0,05$); отмечено уменьшении массы семенников ($p < 0,05$), придатка семенника ($p < 0,05$), простаты ($p < 0,05$), масса семенных пузырьков не изменилась ($p > 0,05$). В группе 1 количество эпидермальных сперматозоидов снизилось во всех подгруппах, статистически значимые изменения зафиксированы на 7 (экспозиция 24 часа) и 28 (экспозиция 12, 36 часов) дни исследования. Гистологически не отмечено значимого угнетения сперматогенеза, кроме уменьшения площади, диаметра семенных канальцев на 7, 28 дни после операции (экспозиция 24, 36 часов). В группе 2 дожитие животных отмечалось лишь при использовании цисплатина в дозе 1 мг/кг пятикратно. Масса тела снизилась у всех крыс без восстановления, зафиксированные через 1 неделю тромбоцитопения, лейкоцитопения регрессировали ко 2-й недели исследования. Отмечено снижение массы всех репродуктивных органов. Концентрация сперматозоидов снизилась к 1-й неделе и восстановилась к 28-й неделе. При анализе биоптатов семенников: выраженная дезорганизация сперматогенного эпителия, уменьшение абсолютной площади и диаметра семенных канальцев.

Заключение. Наложение лигатуры на семенной канатик не вызывает стойкого угнетения сперматогенеза. Цисплатин в дозе 1 мг/кг вызывает выраженное, стойкое повреждение сперматогенного эпителия.

Ключевые слова: мужское бесплодие; патоспермия; азооспермия; цисплатин; крысы

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки. **Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. **Этическое заявление.** Исследование выполнено в соответствии с этическими нормами обращения с животными, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и иных научных целей (CETS 123), Федерацией европейских ассоциаций по науке о лабораторных животных (FELASA), Международным советом по науке о лабораторных животных (ICLAS). **Этическое одобрение.** Исследование одобрено локальным этическим комитетом Испытательного центра «Виварно-экспериментальный комплекс» ООО НИИ Митоинжененнрии МГУ (ИЦ ВЭК) (Протокол №109 от 10.04.2017 года). **Вклад авторов:** М.В. Епифанова — научное руководство, концепция исследования, разработка дизайна исследования, 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; О.Ю. Малинина — обзор публикаций по теме статьи; С.А. Артеменко — обзор публикаций по теме статьи, написание текста статьи; А.А. Епифанов — обзор публикаций по теме статьи, написание текста статьи.
✉ **Корреспондирующий автор:** Майя Владимировна Епифанова; epifanova_maya@mail.ru
Поступила в редакцию: 28.02.2023. **Принята к публикации:** 16.05.2023. Опубликована: 26.06.2023.
Для цитирования: Епифанова М.В., Костин А.А., Малинина О.Ю., Артеменко С.А., Епифанов А.А. Фармакологическая и хирургическая экспериментальные модели индукции нарушения сперматогенеза. *Вестник урологии.* 2023;11(2):28-36. DOI: 10.21886/2308-6424-2023-11-2-28-36.

Pharmacological and surgical experimental animal models of induction of spermatogenesis disorders

© Maya V. Epifanova [1], Andrey A. Kostin [1], Olga Yu. Malinina [2], Sergey A. Artemenko [1], Alexander A. Epifanov [3]

1 RUDN University [6 Miklukho-Maklaya St., Moscow, 117198, Russian Federation]
2 City Clinical Hospital No.29 named after N.E. Bauman of the Moscow Healthcare Department [2 Hospital Sq., Moscow, 111020, Russian Federation]
3 FSBEI HE A.I. Yevdokimov MSMSU MOH Russia [20 Delegatskaya St., bldg. 1, Moscow, 127473, Russian Federation]

Abstract

Introduction. Experimental induction of spermatogenesis disorders is possible mainly by physical, pharmacological methods. However, not all methods can cause non-obstructive azoospermia.

Objective. To evaluate and compare the effectiveness of induction of spermatogenesis disorders in rat models by applying ligatures to the spermatic cords and administration of cisplatin.

Materials & methods. Seventy-three mature male rats (Wistar) were divided into 2 experimental groups and 1 control (n = 9) group: group 1 (n = 27) with ligature on the spermatic cord for 12 h (n = 9), 24 h (n = 9), 36 h (n = 9); group 2 (n = 37) with five-fold intraperitoneal administration of cisplatin at concentrations of 5 mg/kg, 3 mg/kg, 1 mg/kg. On days 0, 7, 14, 28 after the last day of induction of spermatogenesis disorders, epididymal semen analysis, blood test, total serum testosterone, pathomorphological examination of testes tissue, body weight, reproductive system organ weight were performed to assess model performance.

Results. Ligation to the spermatic cords did not have a negative effect on the general condition of the animals ($p < 0.05$), blood test ($p < 0.05$); there was a decrease in the testicular weight ($p < 0.05$), the appendage of the testis ($p < 0.05$), prostate ($p < 0.05$), the weight of the seminal vesicles did not change ($p > 0.05$). In group 1, the number of epidermal spermatozoa decreased in all subgroups, statistically significant changes were recorded at 7 (exposure 24 h) and 28 (exposure 12, 36 h) days of research. Histologically, there was no significant inhibition of spermatogenesis, except for a decrease in the area, diameter of the seminal tubules on 7, 28 days after surgery (exposure 24, 36 h). In group 2, the survival of animals was noted only when using cisplatin at a dose of 1 mg/kg five times. Body weight decreased in all rats without recovery, thrombocytopenia recorded after 1 wk, leukocytopenia regressed by 2 wk of the study. A decrease in the weight of all reproductive organs was noted. Sperm concentration decreased at 1 wk and recovered at 28 wk. In the analysis of testicular biopsies: pronounced disorganization of the spermatogenic epithelium, a decrease in the absolute area and diameter of the seminal tubules.

Conclusion. Ligation to the spermatic cord does not cause permanent inhibition of spermatogenesis. Cisplatin at a dose of 1 mg/kg causes persistent severe damage to the spermatogenic epithelium.

Keywords: male infertility; sperm disorders; azoospermia; cisplatin; rats

Financing. The study was not sponsored. **Conflict of interest.** The authors declare no conflicts of interest. **Ethical statement.** The study was carried out in accordance with the Ethical standards for the treatment of animals adopted by the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals for Research and Other Scientific Purposes (CETS 123), the Federation of European Associations for the Laboratory Animal Science (FELASA) and the International Council for the Laboratory Animal Science (ICLAS). **Ethical approval.** The study was approved by the Ethical Committee of the test centre "Vivarium-Experimental Complex", Lomonosov Moscow State University, Research Institute of Mitoengineering (TC VEC), LLC (Protocol No. 109 dated 10-04-2017). **Authors' contribution:** M.V. Epifanova — supervision, research concept, research design development, literature review, data acquisition, data analysis, drafting the manuscript, scientific editing; A.A. Kostin — scientific editing, scientific advision; O.Yu. Malinina — literature review; S.A. Artemenko — literature review, drafting the manuscript; A.A. Epifanov — literature review, drafting the manuscript.
✉ **Corresponding author:** Maya V. Epifanova; epifanova_maya@mail.ru
Received: 02/28/2022. **Accepted:** 05/16/2023. **Published:** 06/26/2023.
For citation: Epifanova M.V., Kostin A.A., Malinina O.Yu., Artemenko S.A., Epifanov A.A. Pharmacological and surgical experimental animal models of induction of spermatogenesis disorders. *Urology Herald.* 2023;11(2):28-36. (In Russ.). DOI: 10.21886/2308-6424-2023-11-2-28-36.

Введение

Азооспермией называют состояние, при котором сперматозоиды отсутствуют в эякуляте, в том числе после центрифугирования последнего [1]. При анализе статистических данных доля диагностированной азооспермии среди общей популяции мужчин составляет около 1%, а среди мужчин с верифицированным бесплодием — в среднем 10 – 15% [2, 3].

Для изучения тех или иных методов лечения мужского бесплодия используют некоторые экспериментальные модели на лабораторных животных. Наиболее по-

пулярными являются фармакологические и хирургические (физические) методы.

Среди хирургических моделей наибольшую популярность получили воздействие высокой температурой на яички [2, 4 – 6] и перекрут яичек с последующей деторсией или без неё [7, 8]. Другим вариантом хирургической модели является временное (на срок от нескольких часов до суток) наложение лигатур на семенные канатики. Ведущими повреждающими факторами в указанных выше моделях являются ишемия и последующая реперфузия тканей, которые воздействуют на сперматогенный эпителий как напрямую, так и опосредованно, вызывая гибель клеток Leydig и снижение продукции тестостерона. Перекрут яичек и лигирование семенных канатиков без последующей деторсии или снятии лигатуры, соответственно, осложняются ишемическим некрозом тестикулярной ткани, что приводит к полной утрате чувствительности моделей к исследуемой терапии [9, 10].

Среди препаратов, которые используются для индукции нарушений сперматогенеза, в том числе необструктивной формы азооспермии (НОА), чаще всего применяются цитостатики цисплатин [11 – 14] и бусульфан [15 – 18].

Данные препараты способствуют алкилированию и образованию поперечных сшивок между нитями ДНК, тем самым подавляя деление, рост клеток различного происхождения, в том числе клеток сперматогенного эпителия. Одним из широко используемых веществ является цисплатин (HUANG, POGACH, and NATHAN 1990), представляющий собой комплексное соединение платины, механизм действия которого основан на индукции нерепарируемых повреждении ДНК клеток, приводящих к их апоптотической гибели.

Цель исследования. Провести сравнительное исследование эффективности двух наиболее применяемых экспериментальных моделей по индукции нарушения сперматогенеза на самцах крыс — фармакологической, с использованием цисплатина, и хирургической, с временным наложением лигатуры на семенные канатики.

Материалы и методы

Исследование проводилось в Испытательном центре «Виварно-экспериментальный комплекс» ООО НИИ Митоинженерии МГУ (ИЦ ВЭК) в период с 2017 года по 2019 год. Исследование одобрено локальным этическим комитетом МГУ, протокол № 109 от 10.04.2017 года. В экспериментальное исследование были включены 73 половозрелые особи самцов крыс стока Wistar с массой тела от 250 до 300 г. На протяжении всего исследования крысы были размещены в барьерной зоне ИЦ ВЭК.

Хирургическая индукция нарушения сперматогенеза. В группу с хирургическим методом нарушения сперматогенеза было включено 27 крыс, которых распределили на 3 равноценные группы по 9 особей. Время наложения лигатуры на семенной канатик составляло 12, 24, 36 часов. Для наркоза животных был выбран комбинированный метод — внутрибрюшинное (в/б) введение 15 – 20 мг/кг тилетамина и 15 – 20 мг/кг золазепама (Zoletil ®, «Virbac S.A.», Carros, France) и 3 – 6 мг/кг ксилазина (XylaVET®, «Pharmamagist Gyogyszeripari Kft.», Budapest, Hungary). Хирургический доступ к семенным канатикам и семенникам осуществляли путём разреза всех слоёв яичка по вентральной поверхности и семенного канатика после предварительной хирургической обработки. Непосредственно наложение лигатуры (шёлк, 4-0) выполнялось на семенной канатик дистально с последующим послойным ушиванием раны (Vicryl, 4-0). По истечении 12, 24, 36 часов после операции крыс повторно наркотизировали и осуществляли доступ к гонадам подобно методу, описанному выше, и удаляли наложенные лигатуры, с последующим послойным ушиванием раны (Vicryl, 4-0).

Фармакологическая индукция нарушения сперматогенеза. Для фармакологической индукции нарушений сперматогенеза у крыс использовали курсовое введение цитостатического препарата цисплатина (Cisplatin-Teva®, «Teva Pharmaceutical Industries Ltd.», Petach Tikva, Israel) в виде раствора с использованием фосфатно-солевого буферного раствора. Цисплатин вводили в/б 1 раз в сутки на протяжении 5 дней. В самом начале эксперимента использовалась доза 5 мг/кг (n = 9). Данная доза цитостатика приводила к гибели крыс, вследствие чего было принято решение использовать препарат повторно в дозе 5 мг/кг, а также 3 мг/кг (n = 10) и 1 мг/кг (n = 9) 1 раз в сутки на протяжении 5 дней. 100%-

ного выживания удалось достичь лишь при использовании цисплатина в дозе 1 мг/кг пятикратно.

Для оценки эффективности фармакологической и хирургической моделей на 0, 7, 14, 28 дня после последнего дня индукции нарушения сперматогенеза выполняли исследование (в каждую временную точку брали по 3 животных): эпидидимальной спермы, клинического анализа крови, уровня общего тестостерона крови, патоморфологическое исследование ткани семенников, массы тела, массы органов репродуктивной системы.

Исследование образцов эпидидимальной спермы. Сперму животных получали путём пункции хвоста эпидидимиса крыс после наркотизации. Сперматозоиды выделяли путем использования фосфатного солевого раствора. Оцениваемые показатели спермы — количество сперматозоидов на гемоцитометре Hemalite 1280 (ООО «Dixion», Москва, Россия), морфология с помощью микроскопа AxioScope A1 («Carl Zeiss AG», Oberkochen, Germany), анализ подвижности сперматозоидов при помощи микроскопа ECLIPSE Ti-E («Nikon Corp.», «Mitsubishi Group», Tokyo, Japan).

Оценка гематологических показателей. Кровь животных исследовалась на анализаторе Hemalite 1280 (ООО «Dixion», Москва, Россия).

Патоморфологическое исследование ткани семенников. Образцы ткани семенников дегидрировали в изопропаноле с последующей заливкой в парафине. Полученные блоки готовили толщиной 4 – 5 мкм подвергали депарафинированию и регидратированию, окрашиванию гематоксилином-эозином. Оцениваемые параметры с помощью микроскопа AxioScope A1:

1. Занимаемая абсолютная (мм^2) и относительная (%) площадь семенных канальцев.
2. Средний диаметр канальцев (мкм).
3. Степень атрофии герминативного эпителия (баллы).
4. Степень воспалительной инфильтрации и фиброза (баллы).
5. Другие морфологические изменения (качественно).

Оценка концентрации общего тестостерона крови. Уровень общего тестостерона крови определяли с помощью иммуноферментного анализа, использовались готовые наборы реактивов (DRG, США).

Статистический анализ. Для выполнения анализа данных использовали метод двухфакторного дисперсионного анализа (факторы группа и время), программное обеспечение — GraphPad Prism 6 by Dotmatics («GraphPad Software» Inc., Graphpad Holdings LLC, San Diego, CA, USA). Параметры описательной статистики: среднее (M), стандартное отклонение (SD), стандартную ошибку среднего (SE). Попарные сравнения групп проводили с использованием критериев Šídák или Tukey HSD. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Хирургическая модель индукции нарушения сперматогенеза. Хирургическая индукции патоспермии путём наложения лигатур на семенные канатики в целом не оказывали отрицательного влияния на общее состояние животных. Стоит отметить, что в течение 5 дней несколько снизилась масса тела, но к 14-му дню после операции масса тела крыс была выше, чем до операции ($p < 0,0001$). Также зафиксирован выраженный отёк мошонки.

Показатели клинического анализа крови статистически значимо не отличались от таковых на всех трёх временных точках исследования ($p < 0,05$).

При анализе динамики массы органов репродуктивной системы выявлено, что снижается средняя масса семенников ($p < 0,05$), придатка семенника ($p < 0,05$), предстательной железы ($p < 0,05$), особенно изменения выражены в группе с 24-часовым наложением лигатуры ($p < 0,05$). Масса семенных пузырьков не изменилась в группах ($p > 0,05$) (рис. 1).

Количество эпидидимальных сперматозоидов снизилось во всех группах, однако статистически значимые изменения зафиксированы на 7-й (экспозиция — 24 часа) и 28-й (экспозиция 12 и 36 часов) дни исследования.

Патомофрологическая картина сперматогенного эпителия не продемонстрировала выраженных признаков угнетения сперматогенеза. Исключительно площадь канальцев уменьшилась на 7-й и 28-й дни после операции (экспозиция лигатуры — 24 и 36 часов). Дезорганизация сперматогенного эпителия наблюдалась лишь у единичных крыс в группе с 24-часовым наложением лигатуры (рис. 2).

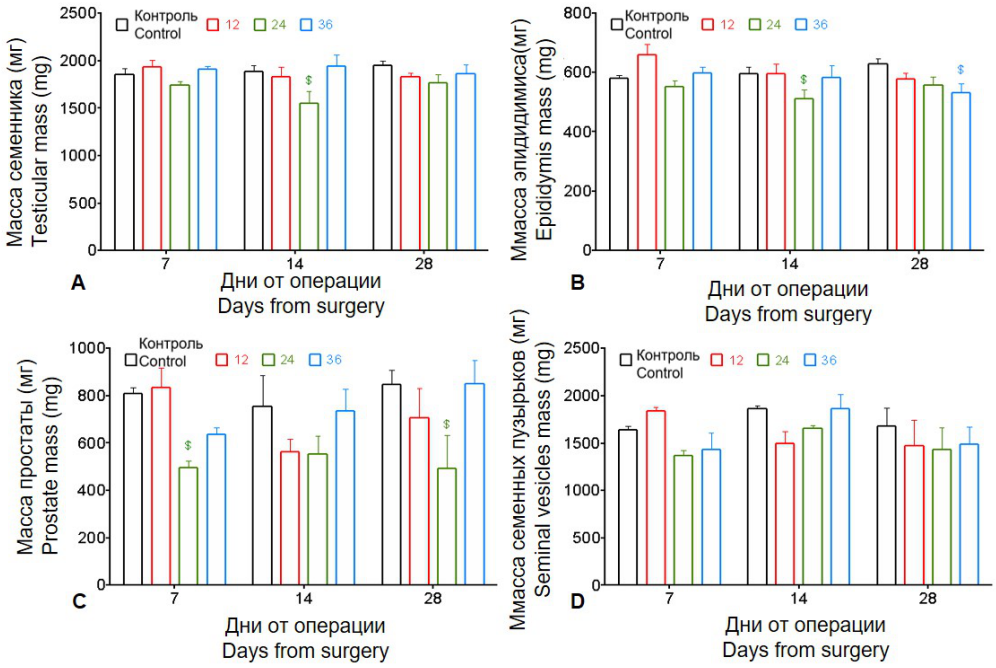

Рисунок 1. Масса семенников (A), придатков семенника (B), простаты (C), семенных пузырьков (D) крыс после наложения лигатуры на семенной канатик на 12, 24 или 36 часах $ — p < 0,05 по сравнению с контролем, тест Šídák

Figure 1. *Testicular weight (A), epididymis weight (B), prostate weight (C), seminal vesicles weight (D) of rats after ligation to the spermatic cord for 12, 24 or 36 hours. $ — p < 0.05 compared to the control, Šídák test*

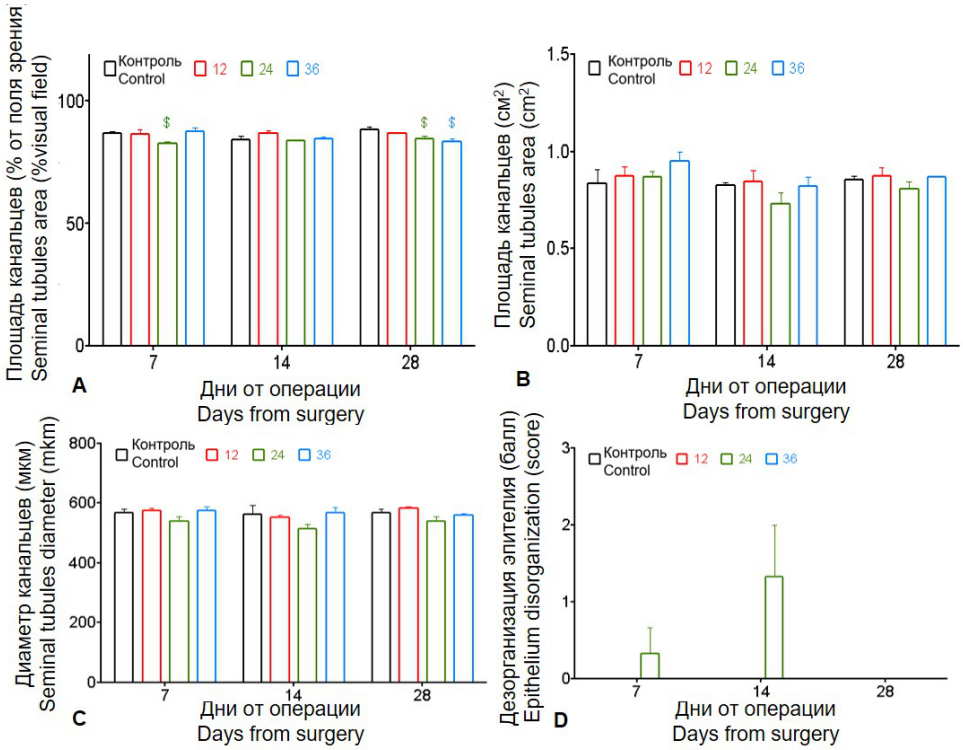

Рисунок 2. Процент, занимаемый семенными канальцами в поле зрения (A), абсолютная площадь семенных канальцев (B), средний диаметр семенных канальцев (C), выраженность поражений сперматогенного эпителия (D) после наложения лигатуры на семенной канатик на 12, 24, 36 часах $ — p < 0,05 по сравнению с контролем, тест Šídák

Figure 2. *Percentage occupied by seminal tubules in the FoV (A), absolute seminal tubule area (B), mean diameter of seminal tubules (C) and severity of spermatogenic epithelium lesions (D) after ligation of the spermatic cord at 12, 24 and 36 h. $ — p < 0.05 compared with the control, Šídák test*

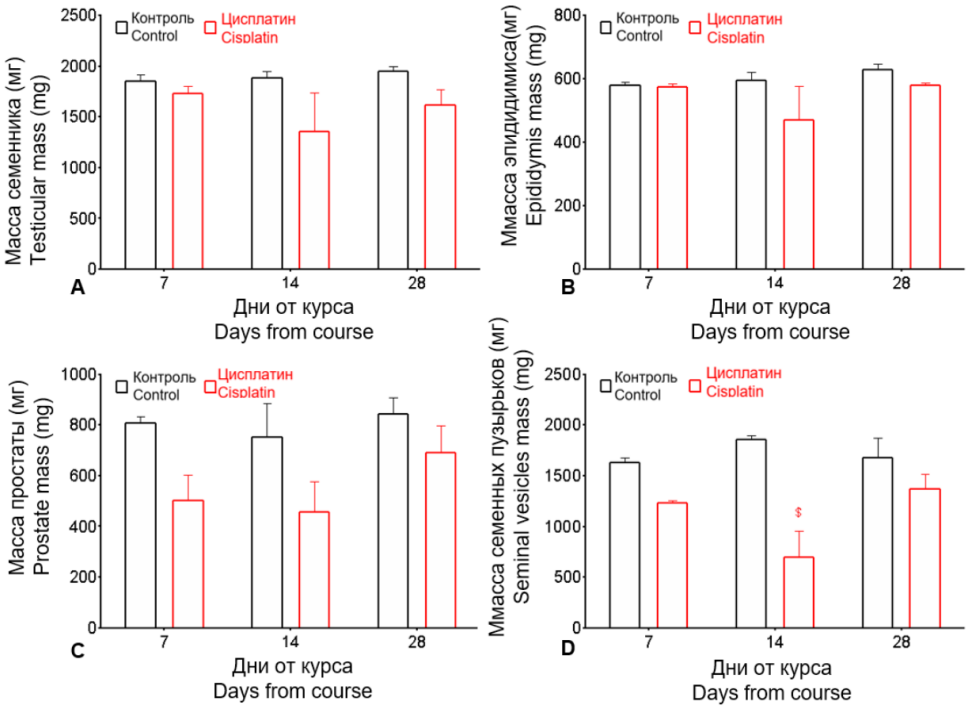

Рисунок 3. Масса семенников (A), придатков семенника (B), простаты (C), семенных пузырьков (D) у крыс, получавших цисплатин. $ — p < 0,05 по сравнению с контролем, тест Šídák
Figure 3. *Testicular weight (A), epididymis weight (B), prostate weight (C), seminal vesicles weight (D) in rats treated with cisplatin. $ — p < 0.05 compared to the control, Šídák test.*

Фармакологическая модель индукции нарушения сперматогенеза. Как уже упоминалось выше, цисплатиновая модель нарушения сперматогенеза приводила к 100%-ной летальности в дозе цитостатика 5 мг/кг. Для титрования необходимой дозы цисплатина в исследование дополнительно было включено 10 крыс (3 мг/кг) и 9 крыс (1 мг/кг). Цисплатин в режиме введения 1 мг/кг в/б ежедневно в течение 5 дней позволил обеспечить 100%-ную выживаемость животных.

Масса тела крыс прогрессивно снижалась на всём протяжении исследования без признаков восстановления. Через 1 неделю после индукции нарушения сперматогенеза зафиксированы значимая тромбоцитопения и лейкоцитопения, уровень гемоглобина и эритроцитов снизились незначимо. Уже ко 2-й неделе гематологические показатели приблизились к результатам в контрольной группе (рис. 3).

Масса семенных пузырьков (p = 0,0003), семенников (p = 0,0275), придатков семенников (p = 0,1128), простаты (p = 0,0060) снизились к 4-й неделе после последнего введения цисплатина.

Концентрация сперматозоидов статистически значимо снизилась лишь к 1-й неделе после индукции патоспермии, к 28-й неделе показатель не отличался от контрольной группы. Анализ гистологического исследования ткани семенников продемонстрировал уменьшение абсолютной площади и диаметра семенных канальцев (p = 0,1166 и p = 0,0730 соответственно). Через 2 и 4 недели обнаружена выраженная дезорганизация сперматогенного эпителия (рис. 4).

Обсуждение

Можно сделать вывод, что хирургическая модель с наложением лигатуры на семенные канатики на 12, 24 и 36 часов не продемонстрировала значимого отрицательного воздействия на сперматогенный эпителий. Несмотря на существующие публикации, где применялась бы хирургическая модель [19 – 21], как результат, необструктивная форма азооспермии не фиксируется, возникают другие количественные и качественные изменения показателей спермограммы, однако они самостоятельно обратимы.

Стоит отметить, что более длительное время экспозиции лигатуры не оказывало большего эффекта в сравнении с 12 часами.

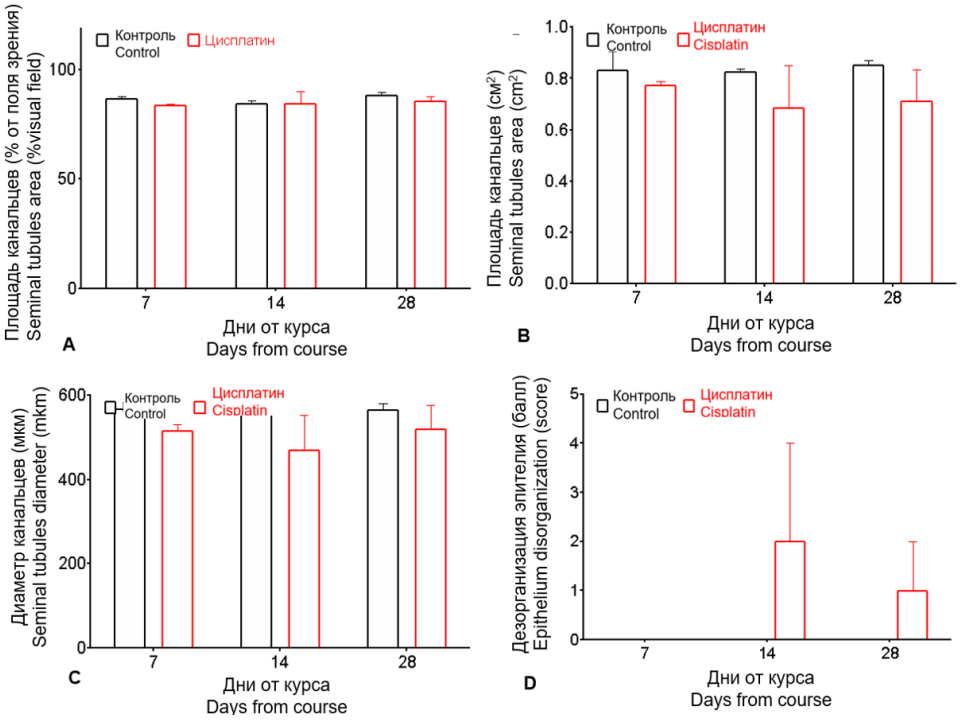

Рисунок 4. Процент, занимаемый семенными канальцами в поле зрения (A), абсолютная площадь семенных канальцев (B), средний диаметр семенных канальцев (C), выраженность поражений сперматогенного эпителия (D) у крыс, получавших цисплатин. $ – p < 0,05 по сравнению с контролем, тест Šídák

Figure 4. *Percentage occupied by seminal tubules in the FoV (A), absolute seminal tubule area (B), mean diameter of seminal tubules (C) and severity of spermatogenic epithelium lesions (D) in rats treated with cisplatin. $ — p < 0.05 compared with the control, Šídák test*

К тому же хирургическая модель сопровождается большим объёмом работы, необходимостью операции и ре-операции с наркозом, что может повлечь за собой гибель исследуемых животных. Также важно, что наложение лигатуры или метод с перекрутом яичка ограничивают кровоток по сосудам семенного канатика, что может привести к некрозу гонад. При наложении лигатур на семенные канатики может возникать значительное повреждение (разрыв, перетирание) семявыносящего протока, приводя тем самым к обструктивной форме азооспермии. Вышеуказанные нежелательные исходы модели превращают повреждения в необратимые. С последними заключениями согласны и ряд авторов [19 – 21].

В фармакологической, цисплатиновой модели выявлено значимое снижение массы репродуктивных органов и ухудшение гистологической картины семенников без признаков обратимости состояния. Отмечается высокая токсичность препарата, так как выраженно снижается и масса тела крыс, что может также спровоцировать отрицательные изменения сперматогенного эпителия отсрочено, помимо кумулятивного действия цисплатина. К данным заключениям приходит также ряд авторов, но есть некоторые отличия [11 – 14].

В частности, авторы рекомендуют использовать цисплатин в дозе 2 мг/кг и 2,5 мг/кг, что позволяет добиться дожития животных [11, 13].

J. G. Harman et al. (2014) [13] в своём исследовании продемонстрировали, что использование цисплатина в дозе 5 мг/кг/день приводит к гибели крыс, а использование 2,5 мг/кг/день однократно или дважды позволяет добиться значимых нарушений сперматогенеза без смерти лабораторных животных [13].

R. Abdel-Latif et al. (2022) [11], напротив, не отметили гибели крыс (используемая доза цисплатина составила 7 мг/кг), но цитостатик статистически значимо ухудшил все показатели спермы и гистологическую картину биоптатов семенников. Однако отличием протокола является однократная инъекция цисплатина [11].

Заключение

В результате проведённого эксперимента и межгруппового анализа хирургическая модель является нерепрезентативной. Наложение лигатуры на семенной канатик с разной продолжительностью не вызывала стойкого, необходимого угнетения сперматогенеза (азооспермию) у крыс, что полностью бы не исключало спонтанного восстановления, регенерации сперматогенного эпителия. Среди других отрицательных сторон можно отметить необходимые временные и технические факторы, факт повторной операции. А в некоторых ситуациях может произойти повреждение сосудов семенного канатика и семявыносящего протока, приводящее к непригодности модели, без признаков чувствительности используемых методов терапии. В нашем исследовании цисплатин продемонстрировал выраженное угнетение сперматогенеза, значимое токсическое действие на самих крыс. Однако сопоставление с существующими доклиническими работами цисплатиновая модель репрезентативна показывает, что следует использовать дозы менее 2,5 мг/кг, а кратность введения — менее 5.

Список литературы | References

1 *EAU Guidelines.* Edn. presented at the EAU Annual Congress Amsterdam 2022. ISBN 978-94-92671-16-5.

2 Stephen EH, Chandra A. Declining estimates of infertility in the United States: 1982-2002. *Fertil Steril*. 2006;86(3):516-23.
DOI: 10.1016/j.fertnstert.2006.02.129

3 World Health Organization, Department of Reproductive Health and Research. WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen. 5fh edition.

4 Durairajanayagam D, Agarwal A, Ong C. Causes, effects and molecular mechanisms of testicular heat stress. *Reprod Biomed Online.* 2015;30(1):14-27.
DOI: 10.1016/j.rbmo.2014.09.018

5 Ziaeipour S, Piryaei A, Aliaghaei A, Nazarian H, Naserzadeh P, Ebrahimi V, Abdi S, Shahi F, Ahmadi H, Fadaei Fathabadi F, Abdollahifar MA. Chronic scrotal hyperthermia induces azoospermia and severe damage to testicular tissue in mice. *Acta Histochem.* 2021;123(4):151712.
DOI: 10.1016/j.acthis.2021.151712

6 Rockett JC, Mapp FL, Garges JB, Luft JC, Mori C, Dix DJ. Effects of hyperthermia on spermatogenesis, apoptosis, gene expression, and fertility in adult male mice. *Biol Reprod.* 2001;65(1):229-39.
DOI: 10.1095/biolreprod65.1.229

7 Eliyasi Dashtaki M, Hemadi M, Saki G, Mohammadiasl J, Khodadadi A. Spermatogenesis Recovery Potentials after Transplantation of Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells Cultured with Growth Factors in Experimental Azoospermic Mouse Models. *Cell J*. 2020;21(4):401-409.
DOI: 10.22074/cellj.2020.6055

8 Azizollahi S, Aflatoonian R, Sedigi-Gilani MA, Jafarabadi MA, Behnam B, Azizollahi G, Koruji M. Recruiting testicular torsion introduces an azoospermic mouse model for spermatogonial stem cell transplantation. *Urol J.* 2014;11(3):1648-55.
PMID: 25015612.

9 Wiemer P. Ervaringen met de bloedige zaadstrengligatie als castratiemethode bij de hengst. De chirurgische castratie waarbij de testikel in situ blijft [Experiences with spermatic cord ligation as a method of castration in the stallion. The surgical castration of the testicle in situ appears to be of value]. *Tijdschr Diergeneeskd.* 1998;123(14-15):432-4. (In Dutch).
PMID: 9700860.

10 Badawy A. Percutaneous Ligation of Spermatic Cord as an Alternative to Opened Castration in Donkeys. *Benha Vet Med J.* 2009;20(2): 24-41

11 Abdel-Latif R, Fathy M, Anwar HA, Naseem M, Dandekar T, Othman EM. Cisplatin-Induced Reproductive Toxicity and Oxidative Stress: Ameliorative Effect of Kinetin. *Antioxidants (Basel).* 2022;11(5):863.
DOI: 10.3390/antiox11050863

12 Mohammadnejad D, Abedelahi A, Soleimani-Rad J, Mohammadi-Roshandeh A, Rashtbar M, Azami A. Degenerative effect of Cisplatin on testicular germinal epithelium. *Adv Pharm Bull.* 2012;2(2):173-7.
DOI: 10.5681/apb.2012.026

13 Harman JG, Richburg JH. Cisplatin-induced alterations in the functional spermatogonial stem cell pool and niche in C57/BL/6J mice following a clinically relevant multi-cycle exposure. *Toxicol Lett.* 2014;227(2):99-112.
DOI: 10.1016/j.toxlet.2014.03.019

14 Huang HF, Pogach LM, Nathan E, Giglio W. Acute and chronic effects of cisplatinum upon testicular function in the rat. *J Androl.* 1990;11(5):436-45.
PMID: 2254177

15 Vasiliausha SR, Beltrame FL, de Santi F, Cerri PS, Caneguim BH, Sasso-Cerri E. Seminiferous epithelium damage after short period of busulphan treatment in adult rats and vitamin B12 efficacy in the recovery of spermatogonial germ cells. *Int J Exp Pathol.* 2016;97(4):317-328.
DOI: 10.1111/iep.12195

16 Khanlarkhani N, Pasbakhsh P, Mortezaee K, Naji M, Amidi F, Najafi A, Sobhani A, Zendedel A. Effect of human recombinant granulocyte colony-stimulating factor on rat busulfan-induced testis injury. *J Mol Histol.* 2016;47(1):59-67.
DOI: 10.1007/s10735-015-9647-y

17 Kopecky M, Semecky V, Nachtigal P. Vimentin expression during altered spermatogenesis in rats. *Acta Histochem.* 2005;107(4):279-89.
DOI: 10.1016/j.acthis.2005.06.007

18 Jafarian A, Sadeghi MR, Pejhan N, Salehkhou S, Lakpour N, Akhondi MM. Regeneration of spermatogenesis in a mouse model of azoospermia by follicle-stimulating hormone and oestradiol. *Andrologia*. 2014;46(10):1098-106.
DOI: 10.1111/and.12198

19 Hsiao CH, Ji AT, Chang CC, Chien MH, Lee LM, Ho JH.

Mesenchymal stem cells restore the sperm motility from testicular torsion-detorsion injury by regulation of glucose metabolism in sperm. *Stem Cell Res Ther.* 2019;10(1):270. DOI: 10.1186/s13287-019-1351-5

20 Sabbaghi MA, Bahrami AR, Feizzade B, Kalantar SM, Matin MM, Kalantari M, Aflatoonian A, Saeinasab M. Trial evaluation of bone marrow derived mesenchymal stem cells (MSCs) transplantation in revival of spermatogenesis in testicular torsion. *Middle East Fertil Soc J.* 2012;17(4):243-9. DOI: 10.1016/j.mefs.2012.06.001

21 Sekerci CA, Tanidir Y, Sener TE, Sener G, Cevik O, Yarat A, Alev-Tuzuner B, Cetinel S, Kervancioglu E, Sahan A, Akbal C. 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.jpurol.2016.12.016

Сведения об авторах

Майя Владимировна Епифанова — д-р мед. наук; профессор кафедры урологии и оперативной нефрологии с курсом онкоурологии Медицинского института РУДН
г. Москва, Россия
https://orcid.org/0000-0002-8398-7255
epifanova_maya@mail.ru

Андрей Александрович Костин — д-р мед. наук, профессор, чл.–корр. РАН; первый проректор-проректор по научной работе РУДН; профессор, заведующий кафедрой урологии и оперативной нефрологии с курсом онкоурологии Медицинского института РУДН
г. Москва, Россия
https://orcid.org/0000-0002-0792-6012
kostin@nmirc.ru

Ольга Юрьевна Малинина — канд. мед. наук; врач урологического отделения ГБУЗ «ГКБ № 29 им. Н.Э. Баумана»
г. Москва, Россия
https://orcid.org/0000-0002-8079-1986
malininao@mail.ru

Сергей Алексеевич Артеменко — аспирант кафедры урологии и оперативной нефрологии с курсом онкоурологии Медицинского института РУДН
г. Москва, Россия
https://orcid.org/0000-0002-3630-9427
sergey.artemenko.94@mail.ru

Александр Александрович Епифанов — студент 3 курса стоматологического факультета ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России
г. Москва, Россия
https://orcid.org/0000-0003-4111-6037
epifanov-alexander@outlook.com

Information about the authors

Maya V. Epifanova — M.D., Dr.Sc.(Med); Prof. of Dept. of Urology and Operative Nephrology with Oncourology Course, Medical Institute of RUDN University
Moscow, Russian Federation
https://orcid.org/0000-0002-8398-7255
epifanova_maya@mail.ru

Andrey A. Kostin — M.D., Dr.Sc.(Med); Full Prof; Corresp. Member of the RAS; First Vice-Rector — Vice-Rector for Research of RUDN University; Prof. of Dept. of Urology and Operative Nephrology with Oncourology Course, Medical Institute of RUDN University
Moscow, Russian Federation
https://orcid.org/0000-0002-0792-6012
kostin@nmirc.ru

Olga Yu. Malinina — Cand.Sc.(Med), M.D. in Urology dept. of City Clinical Hospital No.29 named after N.E. Bauman of Moscow Healthcare Department
Moscow, Russian Federation
https://orcid.org/0000-0002-8079-1986
malininao@mail.ru

Sergey A. Artemenko — M.D., Postgrad. Student of Dept. Urology and Operative Nephrology with Oncourology course, Medical Institute of RUDN University
Moscow, Russian Federation
https://orcid.org/0000-0002-3630-9427
sergey.artemenko.94@mail.ru

Alexander A. Epifanov — Student, 3rd study year, Faculty of Dentistry, FSBEI HE A.I. Yevdokimov MSMSU MOH Russia
Moscow, Russian Federation
https://orcid.org/0000-0003-4111-6037
epifanov-alexander@outlook.com