

<https://doi.org/10.29188/2222-8543-2021-14-4-95-101>

Моделирование нарушений сперматогенеза химиотерапевтическими средствами – Цисплатином и Доксорубицином

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Д.А. Охоботов, Г.Д. Сагарадзе, А.О. Монакова, Н.А. Басалова, В.Ю. Балабаньян, В.С. Попов, В.И. Кирпатовский, О.Ю. Нестерова, А.Ю. Ефименко, А.А. Камалов

Медицинский научно-образовательный центр МГУ имени М.В. Ломоносова; д. 27, корп. 10, Ломоносовский просп., Москва, 119192, Россия

Контакт: Охоботов Дмитрий Александрович, 14072003t@mail.ru

Аннотация:

Введение. Цисплатин и Доксорубицин обладают выраженными токсическими эффектами в отношении сперматогенеза. Моделирование нарушений сперматогенеза с использованием данных препаратов может стать удобным и релевантным при проведении доклинических исследований по оценке специфической активности новых препаратов для лечения токсических случаев мужского бесплодия.

Цель. Оценка возможности использования Цисплатина и Доксорубицина для моделирования токсических нарушений сперматогенеза в экспериментах *in vivo*.

Материалы и методы. Работа выполнена на зрелых самцах крыс Wistar и мышей породной группы C57BL/6. Цисплатин вводили внутривентриально однократно в дозах 1 мг/кг, 2 мг/кг, 3 мг/кг и 4 мг/кг (по 2 крысы в каждой группе). Оценивали выраженность нарушений сперматогенеза на 14 и 28-е сутки после введения. При многократном режиме Цисплатин вводили в дозе 4 мг/кг в течение 3-5 дней (по 8 крыс в группе). Доксорубицин вводили внутривентриально в дозах 1,5 мг/кг и 3 мг/кг (по 5 мышей в каждой группе). Оценивали выраженность нарушений сперматогенеза на 35-е сутки. Сравнение режимов использования препаратов было проведено при помощи U-критерия Манна-Уитни.

Результаты. Однократное введение Цисплатина не приводило к нарушению сперматогенеза. При многократном введении Цисплатина была отмечена выраженная общая токсичность и гибель животных, а максимальный процент поврежденных канальцев составлял всего 9,1%. Доксорубицин в используемых дозах вызывал выраженные нарушения структуры, отек и повреждение сперматогенеза почти в 100% канальцев.

Выводы. Использование Доксорубицина целесообразно для моделирования гонадотоксических эффектов ввиду выраженного длительного сперматотоксического действия при меньшей летальности животных. Полученные результаты свидетельствуют о возможности использования Доксорубициновой модели нарушения сперматогенеза для фармакологического изучения потенциальных лекарственных препаратов - стимуляторов регенерации для лечения мужского бесплодия.

Ключевые слова: Цисплатин; Доксорубицин; сперматогенез; гонадотоксичность.

Для цитирования: Охоботов Д.А., Сагарадзе Г.Д., Монакова А.О., Басалова Н.А., Балабаньян В.Ю., Попов В.С., Кирпатовский В.И., Нестерова О.Ю., Ефименко А.Ю., Камалов А.А. Моделирование нарушений сперматогенеза химиотерапевтическими средствами – Цисплатином и Доксорубицином. Экспериментальная и клиническая урология 2021;14(4):95-101; <https://doi.org/10.29188/2222-8543-2021-14-4-95-101>

<https://doi.org/10.29188/2222-8543-2021-14-4-95-101>

Simulation of spermatogenesis disorders with chemotherapeutic agents – Cisplatin and Doxorubicin

EXPERIMENTAL RESEARCH

D.A. Okhobotov, G.D. Sagaradze, A.O. Monakova, N.A. Basalova, V.U. Balabanyan, V.S. Popov, V.I. Kirpatovskiy, O.Yu. Nesterova, A.Yu. Efimenko, A.A. Kamalov

Medical Research and Education Center of Lomonosov Moscow State University; d. 27, k. 10, Lomonosovskij prosp. Moscow, 119192, Russia

Contacts: Dmitry A. Okhobotov, 14072003@rambler.ru

Summary:

Introduction. Cisplatin and Doxorubicin have pronounced toxic effects on spermatogenesis. Modeling of spermatogenesis disorders using these drugs can become convenient and relevant when conducting preclinical studies to assess the specific activity of new drugs for the treatment of toxic cases of male infertility.

Objective. To evaluate the possibility of using Cisplatin and Doxorubicin for spermatogenesis disorders *in vivo* experiments.

Materials and methods. In our study a model of spermatogenesis disorders caused by Cisplatin and doxorubicin was tested in mature male Wistar rats and mice of the C57BL/6 breed group. Cisplatin was administered intraperitoneally once at doses of 1 mg/kg, 2 mg/kg, 3 mg/kg and 4 mg/kg (2 rats in each group). The severity of spermatogenesis disorders was evaluated on the 14th and 28th days after administration. With multiple regimens, cisplatin was administered at a dose of 4 mg/kg for 3-5 days (8 rats per group). Doxorubicin was administered intraperitoneally at doses of 1,5 mg/kg and 3 mg/kg (5 mice in each group). The severity of spermatogenesis disorders was evaluated on the 35th day. The comparison of drug use modes was carried out using the Mann-Whitney U-test.

Results. A single administration of Cisplatin did not lead to a violation of spermatogenesis. Multiple administration of Cisplatin caused severe general toxicity and animal lethality, and the maximum percentage of damaged tubules was only 9.1%. Doxorubicin in all used doses caused severe structural disorders, edema and spermatogenesis disorders in almost 100% of tubules.

Conclusion. Using of Doxorubicin is reasonable for gonadotoxic effect modeling due to the long-term spermatotoxic effects along with lower animal lethality. Thus, Doxorubicin model can be useful for evaluation of specific pharmacological activity of potential drugs – regeneration stimulants for the treatment of male infertility.

Key words: Cisplatin; Doxorubicin; spermatogenesis; gonadotoxicity.

For citation: Okhobotov D.A., Sagaradze G.D., Monakova A.O., Basalova N.A., Balabanyan V.Yu., Popov V.S., Kirpatovskiy V.I., Nesterova O.Yu., Efimenko A.Yu., Kamalov A.A. Modeling of spermatogenesis disorders with chemotherapeutic agents – Cisplatin and Doxorubicin. Experimental and Clinical Urology 2021;14(4):95-101; <https://doi.org/10.29188/2222-8543-2021-14-4-95-101>

ВВЕДЕНИЕ

Сперматогенез представляет собой комплексный процесс деления и дифференцировки сперматогенного эпителия с образованием высокоспециализированных половых клеток – сперматозоидов. По данным ряда исследований сперматогенез в значительной степени подвержен пагубному воздействию окислительного стресса, возникновению которого могут способствовать инфекции половых органов, варикоцеле, токсины окружающей среды, а также прием ряда лекарственных препаратов [1, 2]. Известно, что нарушение фертильности, вплоть до бесплодия, могут вызывать базовые противовоспалительные средства, антибиотики, гормональные контрацептивы, цитостатики и другие противоопухолевые препараты [3].

В последние годы существенное внимание уделяется вопросам бесплодия, вызванного воздействием лучевой и химиотерапии, приводящим как к обратимым, так и необратимым нарушениям мужской фертильности [4, 5]. Активно развиваются исследования, направленные на фармакологическую коррекцию функции сперматогенного эпителия, в том числе с использованием биомедицинских клеточных продуктов [6]. Однако ввиду частого использования полимодальных схем лечения, включающих одновременное применение нескольких химиотерапевтических препаратов, выбор оптимального агента для моделирования нарушения сперматогенеза является нетривиальной задачей [7, 8]. Одним из подходов может являться применение распространенных и доступных химиотерапевтических препаратов, обладающих выраженными токсическими эффектами в отношении сперматогенеза, например, Цисплатина и Доксорубицина. Ключевым механизмом гонадотоксичности данных лекарственных препаратов является развитие дисбаланса про- и антиоксидантных процессов, приводящих к возникновению оксидативного стресса в семенниках и нарушению сперматогенного эпителия и ниши сперматогониальной стволовой клетки. Несмотря на то, что использование гонадотоксичных эффектов Цисплатина и Доксорубицина для моделирования патологии описано в ряде исследований, требуется дальнейшая оптимизация этих моделей для подбора оптимальных доз, режимов введения и контролируемых параметров, релевантных для клинических ситуаций и удобных для использования данных животных моделей в доклинических исследованиях для оценки специфической активности новых препаратов для лечения токсических случаев мужского бесплодия [9, 10].

Таким образом, целью настоящего исследования является оценка возможности использования Цисплатина и Доксорубицина для моделирования токсических нарушений сперматогенеза в экспериментах *in vivo*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Животные

Работа выполнена на половозрелых самцах крыс породной группы Wistar возраста 3,5-4,0 месяцев со стандартными весовыми характеристиками, полученных из питомника Филиала «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России. В исследовании также использовали половозрелых самцов мышей линии C57BL/6 возраста 3 месяца со стандартными весовыми характеристиками, полученных из питомника ИЦиГ СО РАН (Новосибирск).

Животные содержались в виварии лаборатории трансляционной медицины (ФФМ МГУ) в соответствии с ГОСТ 33215-2014 Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур. Исследования на животных проводили в соответствии с Директивой ЕС 201/63/EU.

Моделирование нарушений сперматогенеза

Для моделирования повреждения сперматогенеза Цисплатином были использованы два режима внутрибрюшинного введения препарата. В группу однократного введения Цисплатина (производитель: ФГБУ «РОНЦ им Н.Н. Блохина») в дозах 1 мг/кг, 2 мг/кг, 3 мг/кг и 4 мг/кг было включено 8 крыс: по 2 животных на каждую дозу соответственно. На 28 суток после введения Цисплатина осуществляли выведение животных из эксперимента и гистологический контроль тестикулярных изменений. В группу многократного введения Цисплатина было включено 8 крыс, получавших Цисплатин в дозе 4 мг/кг в течение 3-5 дней.

Для моделирования повреждения сперматогенеза Доксорубицином были использованы два режима внутрибрюшинного введения препарата: однократное введение Доксорубицина (производитель: ООО ЛЭНС-ФАРМ) в дозе 1,5 мг/кг (низкая доза) и 3 мг/кг (высокая доза). В каждую группу было включено по 5 мышей. На 35 суток после введения Доксорубицина осуществлялось выведение животных из эксперимента и гистологический контроль тестикулярных изменений.

Гистологический анализ

Семенники, полученные от животных на момент выведения из эксперимента, были зафиксированы в 10% формалине. Далее органы были залиты в парафин, подготовлены срезы толщиной 1 мкм. Для расчета количества атрофичных семенных канальцев на срезах ткани яичка была использована окраска гематоксилином-эозином. Семенные канальцы с тонким слоем сперматогенного эпителия (толщиной в один клеточный слой в среднем) и склерозированием просвета считали атрофичными.

Статистический анализ

Статистический анализ был проведен с использованием программного обеспечения STATISTICA 12. Было рассчитано процентное количество поврежденных канальцев в поле зрения для каждой модели и режима введения. Данные представлены в виде медиан и 25-, 75-го перцентилей, максимальных и минимальных значений. Сравнение моделей токсического повреждения сперматогенеза было проведено при помощи U-критерия Манна-Уитни. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В группе однократного введения различных доз Цисплатина все исследуемые животные на 28-е сутки после инъекции были живы, видимых системных нарушений не наблюдалось. При гистологическом исследовании тканей яичка (табл. 1, рис. 1А) атрофированных и поврежденных канальцев не наблюдали, сперматогенный эпителий и сперматозоиды были сохранены

(на рис. 1 представлены данные для максимального режима дозирования – 4 мг/кг). При многократном введении Цисплатина в дозе 4 мг/кг была отмечена выраженная токсичность препарата, в результате которой животные погибали до окончания цикла инъекций. Из 8 крыс выжили 3: 2 после трехкратного и 1 – после четырехкратного введения Цисплатина. При гистологическом исследовании ткани яичек (рис. 1Б) до 9,1% семенных канальцев были повреждены (табл. 1).

Учитывая полученные результаты, для второй серии экспериментов был выбран другой химиотерапевтический препарат – Доксорубин, кроме того, для исключения видоспецифичности реакции на препараты исследование провели на мышах. Доксорубин как в низких, так и в высоких дозах оказывал тяжелое токсическое влияние на сперматогенез с наличием до 100% поврежденных канальцев (табл. 1). При гистологическом исследовании ткани яичек после введения Доксорубина (рис. 1 В, Г) было отмечено наличие менее 3-х слоев клеток на базальной мембране большинства канальцев, при этом часть клеток герминогенного

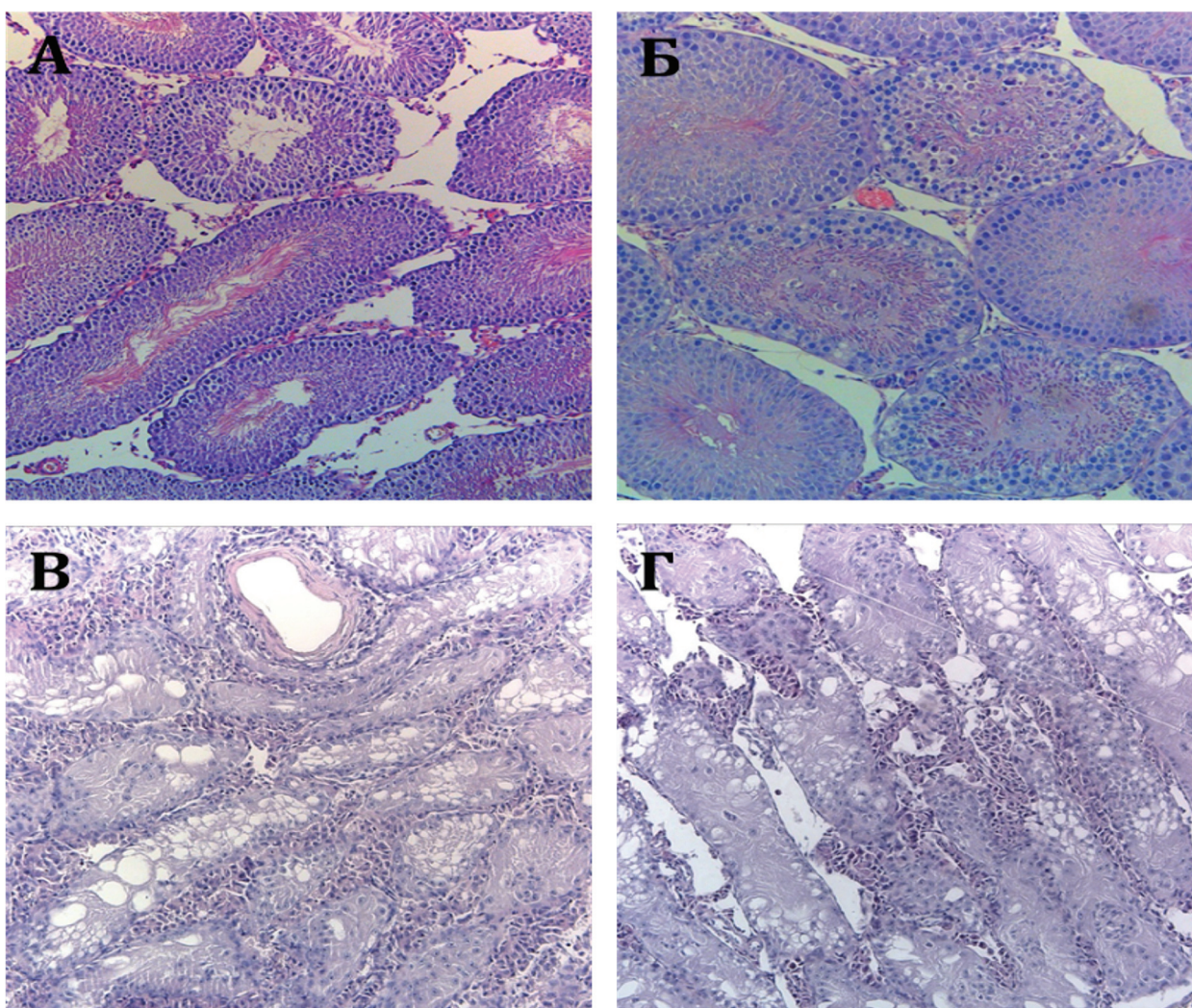


Рис. 1. Гистологическая картина срезов семенников крыс после внутрибрюшинного введения препаратов. А) Цисплатин однократно в дозе 4 мг/кг; Б) Цисплатин многократно (x4); В) Доксорубин в дозе 1,5 мг/кг; Г) Доксорубин в дозе 3 мг/кг. Увеличение 100x. Окраска гематоксилином-эозином.
 Fig. 1. Histology of rat testicles after intraperitoneal administration of drugs; А) cisplatin once at a dose of 4 mg/kg; Б) cisplatin repeatedly (x4); В) doxorubicin at a dose of 1.5 mg/kg; Г) doxorubicin at a dose of 3 mg/kg, 100x, hematoxylin-eosin.

Таблица 1. Количество поврежденных канальцев (%) в поле зрения для групп животных, которым вводили Цисплатин однократно (x1), многократно (xN), Доксорубицин в низкой (НД) или высокой (ВД) дозах для оценки гонадотоксичности
Table 1. The number of damaged tubules (%) in the field of vision for groups of animals that were administered Cisplatin once (x1), multiple (xN), Doxorubicin in high (HD) or low (LD) doses to assess gonadotoxicity

Поврежденные канальцы, % Damaged tubules, %	Цисплатин x1 Cisplatin x1 n=8	Цисплатин xN Cisplatin xN n=8	Доксорубицин, НД Doxorubicin, LD n=5	Доксорубицин, ВД Doxorubicin, HD n=5
Медиана Median	0	0	100	99,7
25%	0	0	99,4	99,5
75%	0	7,7	100	100
Минимум Minimum	0	0	97,4	98
Максимум Maximum	0	9,1	100	100

эпителия было смещена в просвет канальца. Количество сперматозоидов в просвете канальцев было снижено, а в некоторых канальцах зрелые сперматозоиды отсутствовали, что было сопряжено с появлением многочисленных вакуолярных структур, нарушающих нормальную архитектуру тканей яичка.

При попарном сравнении разных режимов введения и дозировок исследуемых препаратов было установлено, ввиду малого количества наблюдений, отсутствие статистически значимых различий внутри каж-

дой из предложенных моделей. Однако при многократном введении Цисплатина отмечалась тенденция к увеличению процентного содержания поврежденных семенных канальцев, но данное различие было статистически незначимым при сравнении с группой однократного введения препарата (рис. 2Б). При анализе нарушений сперматогенеза при введении Доксорубицина было установлено, что Доксорубицин как в низких, так и в высоких дозах повреждает канальцы и сперматогенный эпителий в большей степени, чем Цисплатин при любом режиме дозирования (рис. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ

Доксорубицин и Цисплатин являются высокоэффективными противоопухолевыми препаратами, однако их применение, согласно данным литературы, сопряжено с выраженной гонадотоксичностью [11]. Известно, что Цисплатин запускает апоптоз герминогенных клеток яичек дозозависимым образом, а наибольшие изменения в семенниках наблюдаются при единичной внутрибрюшинной инъекции Цисплатина в дозе 10 мг/кг [12]. Согласно E.J. Chow и соавт. высокие дозы Цисплатина, вводимые мужчинам (более 488 мг/м²), ассоциированы со снижением вероятности наступления беременности в паре и рождения живого потомства, в то время как низкие дозы Цисплатина (355-487 мг/м²) снижали вероятность рождения живого ребенка при сопоставимой со здоровой популяцией частотой зачатия [13]. В исследовании P. Romerius и соавт. через 10 лет после проведенного курса лечения так называемой «стерилизующей» дозой Цисплатина (более 500 мг/м²) у 67% мужчин в спермограмме наблюдалась азооспермия, в то время как назначение низких доз препарата (менее 500 мг/м²) не вызывало подобных нарушений [14].

Похожие результаты были получены в условиях *in vitro* в исследовании M.A. Caroline и соавт. Было показано, что плотность герминогенного эпителия и пролиферирующих герминогенных клеток в яичках

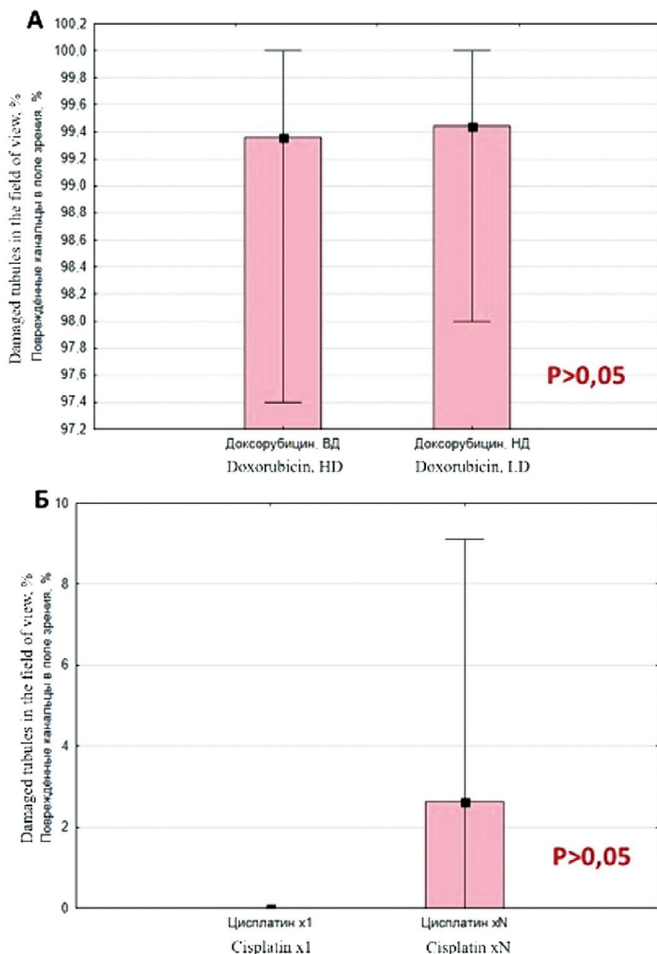


Рис. 2. Сравнительная оценка выраженности нарушений сперматогенеза при использовании Доксорубицина и Цисплатина
Fig. 2. Comparative assessment of the severity of spermatogenesis disorders using Doxorubicin and Cisplatin

уменьшается дозозависимым образом до 15% при инкубации в течение суток в среде с Цисплатином [15]. В нашем исследовании наблюдалась тенденция к подобному повреждению канальцев дозозависимым образом при многократном введении препарата, однако системная токсичность оказалась значительно выше гонадотоксичности, в результате чего животные были выведены из эксперимента ранее запланированного срока по причине повышенной гибели.

Исследования, проведенные на животных моделях, указывают на выраженное токсическое воздействие Цисплатина на морфологию семенников и сперматогенез. Так, по данным А.М. Aboul-Naga и соавт., единичная интраперитонеальная инъекция Цисплатина в дозе 5 мг/кг вызывала деформацию семенных канальцев, выраженное повреждение клеток Сертоли, клеток Лейдига, морфологии и ДНК сперматозоидов [16]. По данным Т. Kohsaka и соавт. внутрибрюшинная инъекция Цисплатина в дозе 6 мг/кг приводила к уменьшению диаметра семенных канальцев, дегенерации слоя зародышевых клеток, а также потере нормальных сперматозоидов, что было сопряжено со снижением уровня тестостерона по сравнению с контрольной группой [17]. Введение Цисплатина в дозе 7 мг/кг проявлялось более выраженным нарушением анатомии яичек: канальцы были практически лишены герминогенного эпителия, а базальная мембрана канальцев принимала вид гофрированной бумаги, что приводило к нарушению гематотестикулярного барьера и усугублению имеющихся нарушений [18]. Однако, в нашем исследовании однократная внутрибрюшинная инъекция Цисплатина в дозе 4 мг/кг не приводила к выраженным морфологическим нарушениям семенных канальцев, что может быть связано с различными дозами вводимых препаратов. В то же время доза 4 мг/кг для крыс является эквивалентной используемой в клинической практике дозе Цисплатина для пациентов.

Многократное внутрибрюшинное введение Цисплатина курсами по 5 дней в неделю в течение 3-х недель в дозе 1 мг/кг, по данным А.Р.А. Favareto и соавт., оказывало токсическое влияние на сперматогенез без выраженной системной токсичности. По окончании курса терапии Цисплатином в биоптатах яичек было отмечено уменьшение диаметра канальцев. При исследовании показателей спермограммы наблюдалось снижение подвижности сперматозоидов, а также уменьшение их количества по сравнению с контрольной группой, при этом подобные изменения носили обратимый характер [19]. В настоящем исследовании многократное введение Цисплатина в дозе 4 мг/кг приводило к выраженному системному токсическому эффекту, а изменения в семенниках были минимальными. Подобные различия с результатами, полученными в работе А.Р.А. Favareto и соавт. могут быть объяснены применением различных доз препарата. Многократное

введение в небольших дозах, по всей видимости, способствует накоплению Цисплатина в тканях, в дальнейшем кумулятивный эффект опосредует гонадотоксичность [20]. В то же время необходимость в длительном режиме введения препарата для развития нарушений сперматогенеза может снижать удобство применения подобной модели в доклинических исследованиях.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что для создания токсической модели сперматогенеза на основе Цисплатина необходимы более высокие дозы препарата. Однако в настоящем исследовании назначение высоких доз Цисплатина приводило к выраженной полиорганной недостаточности с дальнейшим выведением особей из эксперимента по причине их гибели.

Данные литературы по применению Доксорубицина для повреждения сперматогенеза не отличаются выраженной вариабельностью. Различные дозы вводимого препарата сопряжены с выраженной гонадотоксичностью. В исследовании S. Kaug и соавт. внутрибрюшинное трехкратное введение Доксорубицина в дозе 3 мг/кг вызывало уменьшение плотности и истончение герминогенного эпителия, нарушение нормальной структуры базальной мембраны и, как следствие, нарушение гематотестикулярного барьера. В биоптатах яичек было обнаружено большое количество атрофированных семенных канальцев, для которых было характерно включение многочисленных вакуолярных структур, также являющихся своеобразным маркером токсического повреждения [1]. Аналогичные данные были получены в работе Н.М. Khani и соавт. при четырехкратном внутрибрюшинном введении Доксорубицина [21]. При повышении дозы Доксорубицина до 5 мг/кг при однократном введении в спермограмме исследуемых животных было отмечено снижение общего количества сперматозоидов, а также нарушение их морфологии с появлением атипичных форм с микроцефалией, двумя головками, короткой хвостовой частью. Гистологическое исследование яичек выявило снижение плотности герминогенного эпителия с его отделением от базальной мембраны, вакуоляризацией и выходом в просвет канальцев [22]. Внутривенное введение 7 мг/кг Доксорубицина вызывало похожую гистологическую картину [23]. Полученные нами данные по индуцированному Доксорубицином повреждению сперматогенеза полностью согласуются с литературными данными. Как относительно небольшие (1,5 мг/кг), так и высокие дозы Доксорубицина (3 мг/кг) при многократном введении вызывают выраженные морфологические изменения ткани яичек с повреждением более 95% семенных канальцев, что делает индуцированные Доксорубицином повреждения сперматогенеза наиболее удобной моделью для изучения гонадотоксичности, вызываемой противоопухолевыми препаратами. ■

ВЫВОДЫ

Согласно результатам проведенного исследования, использование Цисплатина в выбранном дизайне непригодно для получения стойких нарушений функции сперматогенного эпителия, так как однократное введение не приводит к существенным нарушениям сперматогенеза, а курсовое введение препарата вызывает гибель экспериментальных животных за счет развития полиорганной недостаточности, при которой гонадотоксичный эффект клинически незначим. Индуцированное Доксорубицином повреждение сперматогенеза, по сравнению с применением Цисплатина, является более удобной моделью изучения гонадотоксичности, так как изменения функции сперматогенного эпителия наступают в течение первого же цикла сперматогенеза. При этом в семенных канальцах морфологически отмечаются выраженный отек и нарушение структуры и функции сперматоцитов, а также повреждение клеток Сертоли.

Согласно полученным экспериментальным данным, выбор токсической модели повреждения сперматогенеза представляет собой непростую задачу, несмотря на достаточно многочисленные опубликованные результаты исследований. Наш опыт показывает, что ожидаемые клинические эффекты могут не наступать в ранние сроки после инъекций, а однократные введения токсиканта не оказывают влияния на функцию «забарьерного» органа, которым является яичко, как это было выявлено при анализе результатов, полученных с использованием Цисплатина. В то же время мы показали, что Доксорубицин может быть рекомендован для моделирования стойких, быстро развивающихся нарушений сперматогенеза, что позволяет рекомендовать эту модель для доклинических исследований специфической активности препаратов для лечения мужского бесплодия, вызванного химиотерапевтическими препаратами.

Данная работа проведена в рамках Госзадания МНОЦ МГУ имени М.В. Ломоносова, № гос. регистрации НИОКТР АААА-А19-119120690094-8 от 6 декабря 2019 года. ■

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Kaur S, Maan KS, Sadwal S, Aniq A. Studies on the ameliorative potential of dietary supplemented selenium on doxorubicin-induced testicular damage in mice. *Andrologia* 2020;52(11):e13855.
- Uygun R, Aktas C, Tulubas F, Uygun E, Kanter M, Erboga M, et al. Protective effects of fish omega-3 fatty acids on doxorubicin-induced testicular apoptosis and oxidative damage in rats. *Andrologia* 2014;46(8):917–26.
- Камалов А.А., Охоботов Д.А., Ефименко А.Ю., Сагарадзе Г.Д., Чалый М.Е., Низов А.Н. и др. Выбор химического соединения, обладающего комбинированным сперматотоксическим эффектом, для создания модели управляемого токсического повреждения сперматогенеза. *Технологии живых систем* 2019;16(3):5–20. [Kamalov A.A., Ohobotov D.A., Efimenko A.Yu., Sagaradze G.D., Chaliy M.E., Nizov A.N. et al. Options of a chemical compound with a combined spermatotoxic effect to create a model of controlled toxic damage of spermatogenesis. *Tehnologii zhivyyih system = Living systems technologies* 2019;16(3):5–20.]
- David S, Orwig KE. Spermatogonial Stem Cell Culture in Oncofertility. *Urol Clin North Am* 2020;47(2):227–44.
- Poorvu PD, Frazier AL, Feraco AM, Manley PE, Ginsburg ES, Laufer MR, et al. Cancer Treatment-Related Infertility: A Critical Review of the Evidence. *JNCI cancer Spectr* 2019;3(1):pkz008.
- Sagaradze GD, Basalova NA, Kirpatovsky VI, Ohobotov DA, Grigorieva OA, Balabanyan VY, et al. Application of rat cryptorchidism model for the evaluation of mesenchymal stromal cell secretome regenerative potential. *Biomed Pharmacother* 2019;109:1428–36.
- Douedi S, Carson MP. Anthracycline Medications (Doxorubicin). *In Treasure Island (FL)* 2020: Stat Pearls Publishing, 2021, jan, aug 16.
- Gold JM, Raja A. Cisplatin. *In Treasure Island (FL)* 2020: Stat Pearls Publishing, 2021, jan, jul 25.
- Koster R, van Vugt MATM, Timmer-Bosscha H, Gietema JA, de Jong S. Unravelling mechanisms of cisplatin sensitivity and resistance in testicular cancer. *Expert Rev Mol Med* 2013;15:e12.
- Amin A, Abraham C, Hamza AA, Abdalla ZA, Al-Shamsi SB, Harethi SS, et al. A standardized extract of Ginkgo biloba neutralizes cisplatin-mediated reproductive toxicity in rats. *J Biomed Biotechnol* 2012;2012:362049.
- Fouad AA, Refaie MMM, Abdelghany MI. Naringenin palliates cisplatin and doxorubicin gonadal toxicity in male rats. *Toxicol Mech Methods* 2019;29(1):67–73.
- Zhang X, Yamamoto N, Soramoto S, Takenaka I. Cisplatin-induced germ cell apoptosis in mouse testes. *Arch Androl* 2001;46(1):43–9.
- Chow EJ, Stratton KL, Leisenring WM, Oeffinger KC, Sklar CA, Donaldson SS et al. Pregnancy after chemotherapy in male and female survivors of childhood cancer treated between 1970 and 1999: a report from the Childhood Cancer Survivor Study cohort. *The Lancet Oncology* 2016;17(5):567–76.
- Romerius P, Ståhl O, Moëll C, Relander T, Cavallin-Ståhl E, Wiebe T et al. High risk of azoospermia in men treated for childhood cancer. *International journal of andrology* 2011;34(1):69–76.
- Allen CM, Lopes F, Mitchell RT, Spears N. Comparative gonadotoxicity of the chemotherapy drugs cisplatin and carboplatin on prepubertal mouse gonads. *Mol Hum Reprod* 2020;26(3):129–40.
- Aboul-Naga AM, Hamam ET, Awadalla A, Shokeir AA. The protective role of l-carnitine on spermatogenesis after cisplatin treatment during prepubertal period in rats: A pathophysiological study. *Life Sci* 2020;258:118242.
- Kohsaka T, Minagawa I, Morimoto M, Yoshida T, Sasanami T, Yoneda Y, et al. Efficacy of relaxin for cisplatin-induced testicular dysfunction and epididymal spermatotoxicity. *Basic Clin Androl* 2020;30:3.
- Fekry E, Rahman AA, Awany MM, Makary S. Protective effect of mirtazapine versus ginger against cisplatin-induced testicular damage in adult male albino rats. *Ultrastruct Pathol* 2019;43(1):66–79.
- Favareto APA, Fernandez CDB, da Silva DAF, Anselmo-Franci JA, Kempinas WDG. Persistent impairment of testicular histology and sperm motility in adult rats treated with Cisplatin at peri-puberty. *Basic Clin Pharmacol*

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

Toxicol 2011;109(2):85–96.
 20. Whirlledge SD, Garcia JM, Smith RG, Lamb DJ. Ghrelin partially protects against cisplatin-induced male murine gonadal toxicity in a GHSR-1a-dependent manner. *Biol Reprod* 2015;92(3):76.
 21. Khani HM, Shariati M, Forouzanfar M, Hosseini SE. Protective effects of *Ceratonia siliqua* extract on protamine gene expression, testicular function, and testicular histology in doxorubicin-treated adult rats: An experimental study. *Int J Reprod Biomed* 2020;18(8):667–82.
 22. Abdelaziz MH, Salah El-Din EY, El-Dakdoky MH, Ahmed TA. The impact of mesenchymal stem cells on doxorubicin-induced testicular toxicity and progeny outcome of male prepubertal rats. *Birth defects Res* 2019;111(13):906–19.
 23. Silva RC, Britto DMC, de Fátima Pereira W, Brito-Melo GEA, Machado CT, Pedreira MM. Effect of short- and medium-term toxicity of doxorubicin

Сведения об авторах:

Охоботов Д.А. – к.б.н., врач-уролог Медицинского научно-образовательного центра МГУ им. М.В. Ломоносова; доцент кафедры урологии и андрологии факультета фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова; Москва, Россия; 14072003@rambler.ru, РИНЦ AuthorID 759176

Сагарадзе Г.Д. – к.б.н. младший научный сотрудник Медицинского научно-образовательного центра МГУ им. М.В. Ломоносова; Москва, Россия; georgysagaradze@gmail.com; РИНЦ AuthorID 1050192

Монакова А.О. – студент факультета фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова; Москва, Россия; monakova-anya@mail.ru

Басалова Н.А. – аспирант факультета фундаментальной медицины, лаборант-исследователь Медицинского научно-образовательного центра МГУ им. М.В. Ломоносова; Москва, Россия; basalova.natalia@gmail.com, РИНЦ AuthorID 1071027

Балабаньян В.Ю. – д.фарм.н. ведущий научный сотрудник межфакультетской научно-исследовательской лабораторией трансляционной медицины, ведущий научный сотрудник Медицинского научно-образовательного центра МГУ им. М.В. Ломоносова; Москва, Россия; bal.pharm@mail.ru

Попов В.С. – к.б.н. заведующий межфакультетской научно-исследовательской лабораторией трансляционной медицины, ведущий научный сотрудник Медицинского научно-образовательного центра МГУ им. М.В. Ломоносова; Москва, Россия; galiantus@gmail.com; РИНЦ AuthorID: 1071001

Кирпатовский В.И. – д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник Медицинского научно-образовательного центра МГУ им. М.В. Ломоносова; Москва, Россия; vladkirp@yandex.ru; РИНЦ AuthorID 604441

Нестерова О.Ю. – ординатор кафедры урологии и андрологии факультета фундаментальной медицины МГУ имени М.В. Ломоносова; Москва, Россия; oy.nesterova@gmail.com

Ефименко А.Ю. – к.м.н., заведующая лабораторией репарации и регенерации тканей, Институт регенеративной медицины Медицинского научно-образовательного центра МГУ им. М.В. Ломоносова; Москва, Россия; efimenkoan@gmail.com; РИНЦ AuthorID 600497

Камалов А.А. – профессор, д.м.н., академик РАН, директор Медицинского научно-образовательного центра МГУ им. М.В. Ломоносова; заведующий кафедрой урологии и андрологии факультета фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова; Москва, Россия; armatis.kamalov@rambler.ru; РИНЦ AuthorID 759356

Вклад авторов:

Охоботов Д.А. – научное консультирование статьи, написание текста статьи, 10%
 Сагарадзе Г.Д. – концепция и дизайн исследования, написание текста статьи, 10%
 Монакова А.О. – сбор материала, написание текста статьи, 10%
 Басалова Н.А. – концепция и дизайн исследования, написание текста статьи, 10%
 Балабаньян В.Ю. – научное консультирование статьи, 10%
 Попов В.С. – научное консультирование статьи, 10%
 Кирпатовский В.И. – научное консультирование статьи, 10%
 Нестерова О.Ю. – написание текста статьи, статистическая обработка 10%
 Ефименко А.Ю. – концепция и дизайн исследования, научное консультирование статьи, 10%
 Камалов А.А. – научное консультирование статьи, 10%

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: Данная работа проведена в рамках Госзадания МНОЦ МГУ имени М.В. Ломоносова, № гос. регистрации НИОКТР АААА-А19-119120690094-8 от 6 декабря 2019 года.

Статья поступила: 09.07.21

Результаты рецензирования: 08.08.21

Исправления получены: 21.10.21; 11.11.21

Принята к публикации: 21.11.21

Information about authors:

Okhobotov D.A. – Ph.D., Urologist, Medical Research and Education Center, Lomonosov Moscow State University, Senior Lecturer, Department of Andrology and Urology, Faculty of Fundamental Medicine; Moscow, Russia; 14072003@rambler.ru; https://orcid.org/0000-0002-6768-9004

Sagaradze G.D. – Ph.D., junior researcher, Medical Research and Education Center, Lomonosov Moscow State University; Moscow, Russia; georgysagaradze@gmail.com; https://orcid.org/0000-0003-2551-5118

Monakova A.O. – student of the Faculty of Fundamental Medicine Lomonosov Moscow State University; Moscow, Russia; monakova-anya@mail.ru

Basalova N.A. – PhD student, Faculty of Fundamental Medicine Lomonosov Moscow State University; Moscow, Russia; basalova.natalia@gmail.com; https://orcid.org/0000-0002-2597-8879

Balabanyan V.Yu. – Ph.D., leading researcher at the Interfaculty Research Laboratory of Translational Medicine, leading researcher at Lomonosov Moscow State University; Moscow, Russia; bal.pharm@mail.ru

Popov V.S. – Ph.D., head of the Interfaculty Research Laboratory of Translational Medicine, leading researcher at Lomonosov Moscow State University; Moscow, Russia; galiantus@gmail.com; https://orcid.org/0000-0002-5039-7152

Kirpatovskiy V.I. – Dr. Sc., Professor, leading researcher at Lomonosov Moscow State University; Moscow, Russia; vladkirp@yandex.ru; https://orcid.org/0000-0002-4356-9200

Nesterova O.Yu. – resident physician at the Department of Urology and Andrology of the Faculty of Fundamental Medicine Lomonosov Moscow State University; Moscow, Russia; oy.nesterova@gmail.com; https://orcid.org/0000-0003-3355-4547

Efimenko A.Yu. – Ph.D., head of laboratory of tissue repair and regeneration, Institute for Regenerative Medicine, Medical Research and Educational Centre, Lomonosov Moscow State University; Moscow, Russia; efimenkoan@gmail.com; https://orcid.org/0000-0002-0696-1369

Kamalov A.A. – Professor, Dr. Sc., Academician RAS, Director, Medical Research and Education Center of Lomonosov Moscow State University, Head of the Department of Urology and Andrology Faculty of Fundamental Medicine, Lomonosov Moscow State University; Moscow, Russia; armatis.kamalov@rambler.ru; https://orcid.org/0000-0003-4251-7545

Authors' contributions:

Okhobotov D.A. – scientific consulting, article writing, 10%
 Sagaradze G.D. – developing the research design, article writing, 10%
 Monakova A.O. – obtaining data, article writing, 10%
 Basalova N.A. – developing the research design, article writing, 10%
 Balabanyan V.U. – scientific consulting, 10%
 Popov V.S. – scientific consulting, 10%
 Kirpatovskiy V.I. – scientific consulting, 10%
 Nesterova O.Yu. – article writing, analyzing statistical data, 10%
 Efimenko A.Yu. – developing the research design, scientific consulting, 10%
 Kamalov A.A. – scientific consulting, 10%

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

Financing. This work was carried out within the framework of the State Assignment of the Lomonosov Moscow State University, No. R&D registration АААА-А19-119120690094-8 dated December 6, 2019.

Received: 09.07.21

Peer review: 08.08.21

Corrections received: 21.10.21; 11.11.21

Accepted for publication: 21.11.21