

## ОЦІНКА КЛІНІЧНОЇ ЕФЕКТИВНОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ ГЕМОПОЕТИЧНИХ ПРОГЕНІТОРНИХ КЛІТИН ПРИ СЕКРЕТОРНИЙ ФОРМІ ЧОЛОВІЧОЇ БЕЗПЛІДНОСТІ

**Я.О. Мірошников,**

*Координаційний центр трансплантації органів, тканин і клітин МОЗ  
України, м. Київ*

*Обстежено та проліковано 12 пацієнтів з чоловічим фактором безплідності, після відповідної підготовки (проти запальна терапія, корекція варикоцеле, дезінтоксикація), на регенераційному етапі поновлення сперматогенезу, пацієнтам проводилася трансплантація прогеніторних гемопоетичних клітин шляхом внутрішньовенної інфузії. Запліднення досягнуте у 3 подружніх пар, раніше чоловіки безуспішно проходили курс традиційної терапії. Аналіз динаміки спермограм показав підвищення концентрації та загальної кількості сперматозоїдів в 2,2-2,4 раза, рухливості – в 1,7 раза, зниження терато-і некроспермії - в 1,2 раза.*

**Ключові слова:** андрологія, чоловіча безплідність, діагностика, ефективність, гемопоетичні прогеніторні клітини.

*Обследовано и пролечено 12 пациентов с мужским фактором бесплодия, после соответствующей подготовки (противовоспалительная терапия, коррекция варикоцеле, дезинтоксикация), на регенерационном этапе восстановления сперматогенеза, пациентам проводилась трансплантация прогениторных гемопоэтических клеток путём однократной внутривенной инфузии. Зачатие достигнуто у 3 супружеских пар (25%), ранее мужчины безуспешно проходили курс традиционной терапии. Анализ динамики спермограмм показал увеличение концентрации и общего количества сперматозоидов в 2,2–2,4 раза, подвижности – в 1,7 раза, снижение терато-и некроспермии - в 1,2 раза.*

**Ключевые слова:** андрология, мужское бесплодие, диагностика, эффективность, гемопоэтические прогениторные клетки.

Проблемі безплідного шлюбу у всьому світі надають великого значення. Відомо, що близько половини безплідних шлюбів обумовлені патологією статевих залоз чоловіка [1].

Труднощі та часті невдачі у лікуванні чоловічої безплідності загальновідомі. Разом з тим оцінка ефективності лікування безплідності не може бути однозначною через багатофакторність його причин, відмінності патогенезу і клінічного перебігу.

Лікування чоловічої безплідності спрямоване на відновлення сперматогенезу, прохідності шляхів, по яких просуваються сперматозоїди, корекцію порушень статевого акту. З цією метою застосовують протизапальні і гормональні засоби, терапію, що зміцнює загальний стан здоров'я, а за необхідності – оперативне втручання [2].

Сперматогенез – це складний процес, до якого залучено декілька типів клітин. До них відносять статеві клітини, що здатні диференціюватися в гамети; гормон-секретуючі клітини Лейдіга і клітини Сертолі (Leydig, Sertoli), які забезпечують регуляцію і диференціювання клітин статевого ряду [3, 4, 5, 6, 7].

Останнім часом у клінічній практиці провідне місце займають різні методи клітинної і тканинної терапії [8 - 13].

У літературі є поодинокі повідомлення про використання ЕСК в репродуктивній медицині при лікуванні безплідності у чоловіків [3, 14 - 17]. Науковцям уже вдалося шляхом кількох перетворень отримати із ЕСК чоловічі та жіночі гамети. У 2003 р. Тоуоока Ү. і співавт. виростили

in vitro повноцінні сперматозоїди миші [18]. У тому ж році Moore F.L. і співавт. [19] повідомили про те, що в лабораторних умовах вони отримали з ЕСК яйцеклітини миші. Пріоритетність досліджень спрямованого перетворення ЕСК in vitro визначається можливістю їх використання в регенеративно-пластичній медицині [20].

Культивування сперматогенних стовбурових/прогеніторних клітин (СпСПК) до останнього часу було тяжким для виконання завданням, через те що виділення із протоків скручених сім'яних каналців клітини навіть на фідерному шарі інактивованих мишачих ембріональних фібробластів швидко втрачають проліферативну активність [21, 22]. Проте, використовуючи специфічний коктейль факторів росту, до складу якого входили glial cell line-derived neurotrophic factor, EGF, bFGF і LIF, Shinohara T. і співавт. [23] вдалося культивувати СпСПК миші протягом тривалого часу. Дослідники охарактеризували GPR125 як поверхневий клітинний маркер, що характеризує популяцію c-kit-PLZF + СпСПК, які самопоновлюються (*регенеруються?*) і здатні відновлювати сперматогенез при трансплантації безплідним мишам і конвертуватися в GPR125 + MASCs під час тривалого культивування. Одержані дані дозволяють авторам стверджувати, що GPR125 + сперматогенні клітини є клітинами-попередниками MASCs [24-26].

Goossens E. і співавт. [27] в експерименті на мишачій моделі довели, що сперма, яку отримали після трансплантації стовбурових клітин, здатна запліднювати оцити в програмах допоміжних репродуктивних технологій.

Експерименти з виділення і характеристики статевих клітин з ЕСК дозволяють досліджувати біологічні процеси в гаметах і гаметогенез, а також стати одним із способів лікування безплідності в майбутньому. Останнім часом з'являються повідомлення про формування з ЕСК ооцитів [28] і сперматозоїдів [29].

Дослідникам вдалося довести, що отримані з ЕСК чоловічі гамети цілком функціональні. Подальше удосконалення методики одержання статевих клітин з ЕСК та підвищення ефективності запліднення і народження здорового потомства зможуть вирішити проблему лікування безплідності. Виділення функціональних чоловічих і жіночих гамет із однієї лінії ЕСК дозволить повністю автономно підтримувати і оновлювати цю лінію шляхом створення нових бластоцист [14].

Мета роботи - оцінити клінічну ефективність використання гемопоетичних прогеніторних клітин у комплексному лікуванні секреторної форми чоловічої безплідності.

#### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Обстеження 12 хворих на секреторну форму безплідності включало збір скарг, анамнезу (інфекційного, токсикологічного, травматичного, алергологічного, хірургічного, сомнеологічного тощо), фізикальне обстеження, ультразвукове (у сумнівних випадках – магніторезонансне) дослідження органів калитки на апараті «МІНДРЕЙ», США, за необхідності – доплерографічне дослідження кровообігу в яєчках, дослідження гормонального балансу проводилося імуноферментним методом на півавтоматичному аналізаторі StatFax-350. Вивчали рівні загального та вільного тестостерону (Тв. Та Тз.), лютеїнізуючого та фолікулостимулювального гормонів (ЛГ та ФСГ), пролактину (Прл) та глобуліну, що зв'язує статеві гормони [1]. Дослідження еякуляту виконувалося за стандартами ВООЗ, уніфікованою методикою, використовувався мікроскоп ERMA INC, Японія [1]. Програма обстеження чоловіка та його партнерки з безплідної пари здійснювалася за стандартами МОЗ України.

Під час дослідження на наявність антиспермальних антитіл в еякуляті

останні були виявлені у 4 (33%). У цьому разі в реабілітаційну програму включалась інфузійна десенсибілізація за допомогою реамбірину, а також методи еферентної терапії (гемоімуносорбція).

За наявності інфекції та обтяженого токсикологічного анамнезу проводилось підготовче лікування, що передбачало антибіотикотерапію (за даними антибіотикограми), комплексну санацію організму та сечостатевої системи із застосуванням антигомтоксичних, фізіотерапевтичних, інфузійних методик.

Через 1 місяць після введення гемопоетичних прогеніторних клітин проводилося повторне дослідження спермограми.

Критерії ефективності були поділені на андрологічні та репродукційні. До андрологічних критеріїв відносять покращання сперматогенезу, до репродукційних – запліднення та народження здорової дитини.

Отримані дані статистично оброблені за допомогою програми «BIOSTAT» з вирахуванням t-критерію Стьюдента.

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Моніторинг пацієнтів продемонстрував покращання основних показників сперматогенезу, а саме: концентрації, загальної кількості сперматозоїдів - у 2 та більше разів у всіх 12 пацієнтів, а рухливості а+б, значущою для запліднення, – в 1,8 раза. Зафіксовано 3 вагітності (25%) від чоловіків, терапія безплідності у яких класичними методами була неефективною. Найменший ефект досягнутий у 3 пацієнтів, в одного з них виявлена анеуплоїдія за fish-методикою, у 2 – антиспермальні антитіла за MAR-методикою в еякуляті [30]. Ми вважаємо, що дослідження на антиспермальні антитіла повинно бути обов'язковим перед стимуляцією сперматогенезу методами клітинної та тканинної трансплантації. Генетичний скринінг необхідно проводити за показаннями, зокрема, невиношування вагітності, аномалії розвитку, обтяжений генеалогічний анамнез. Такий підхід дозволить звести до мінімуму невдачі при стимуляції сперматогенезу та виключить генетичні репродуктивні втрати за рахунок застосування (pre genetic diagnostic), PGD [31].

Результати дослідження динаміки змін спермограми наведені у таблиці 1. Об'єм еякуляту порівняно з контролем був меншим в 1,3 раза, та після лікування достовірних змін не зазнавав; показники часу розрідження до лікування були нижчими в 1,4 раза, після лікування достовірних змін не зафіксовано. Концентрація сперматозоїдів до лікування була у 3,8 раза менша за контроль і зростала після лікування в 2,4 раза, але залишалася меншою за контрольний показник на 37,4%. Загальна кількість сперматозоїдів також зазнала відповідних змін: їх рівень до лікування був у 4,9 раза нижчим від контролю, після лікування він зріс у 2,3 раза, однак залишався у 2,2 рази нижчим за такий у здорових осіб. Швидка рухливість (а) була в 3,2 раза нижчою за контроль, внаслідок лікування зросла на 37,8%, але залишалася у 2 рази меншою за контроль; рухливість, значуща для запліднення (а+б), до лікування була у 2,9 раза нижчою за контроль, після лікування підвищилася в 1,7 раза та залишалася в 1,7 раза меншою за контроль. Висхідні показники тератоспермії були в 2,5 раза вищими від контролю, в результаті лікування вони зменшилися в 1,2 раза, але залишалися більшими за контроль в 2,1 раза. Показники некроспермії до лікування були вищими в 1,4 раза, ніж у контрольній групі, після лікування вони покращилися в 1,2 раза та залишалися в 1,2 раза вищими за контроль. Лейкоцитоспермія внаслідок лікування достовірно не змінювалася.

Таблиця 1 - Вплив введення гемопоетичних прогеніторних клітин на параметри спермограми у чоловіків, хворих на секреторну безплідність ( $x \pm Sx$ )

Показник, що вивчався	Контроль, n=20	Гемопоетичні прогеніторні клітини, n=12	
		до лікування	після лікування
Об'єм еякуляту, мл	4,15±0,36	3,18±0,13, p>0,052	3,08±0,08, p<0,031; p1>0,543
Час розрідження, хв	37,10±1,96	25,83±0,98, p<0,001	28,00±1,00, p<0,002; p1>0,153
Концентрація сперматозоїдів, млн/мл	75,83±3,62	20,00±0,58.ю p<0,001	47,50±1,26. p<0,001; p1<0,001
Загальна кількість сперматозоїдів, млн	314,69±27,15	63,78±3,79.ю p<0,001	146,60±6,19, p<0,001; p1<0,001
Рухливість а (швидка лінійна прогресивна), %	52,16±3,41	16,17±0,70, p<0,001	26,00±0,73, p<0,0014 p1<0,001
Рухливість б (повільна лінійна прогресивна), %	15,69±1,25	7,17±0,47, p<0,001	13,17±0,54, p>0,143; p1<0,001
Рухливість с (повільна нелінійна), %	11,72±0,98	7,83±0,31, p<0,005	9,67±0,33, p<0,125; p1<0,002
Рухливість а + б, %	67,85±4,37	23,33±0,61, p<0,001	39,17±0,75, p<0,001; p1<0,001
Живі сперматозоїди, %	85,40±3,96	62,83±1,64, p<0,001	74,67±2,58 p>0,061; p1<0,003
Тератоспермія, %	15,68±2,00	39,00±1,42 p<0,001	33,33±1,48, p<0,001; p1<0,02
Лейкоцитоспермія, %	0,32±0,02	1,07±0,04, p<0,001	1,02±0,01, p<0,001; p1>0,238

Примітки: p - ступінь достовірності різниць показників порівняно з контролем;  
p1 - ступінь достовірності різниць показників до та після лікування; n - кількість хворих у групі

Динаміка змін гормонального балансу наведена в таблиці 2. Аналіз даних таблиці 2 свідчить про достовірне підвищення рівня пролактину до лікування порівняно з контролем (на 75%), після введення стовбурових гемопоетичних клітин рівень пролактину знизився на 70% і не відрізнявся достовірно від показників контрольної групи. Рівень загального тестостерону до лікування був в 1,8 раза (45%) нижчим за показники контрольної групи, після лікування він підвищився на 40% та достовірно не відрізнявся від показників контрольної групи; рівень ФСГ до лікування був у 2,2 раза вищий за контрольні показники, після лікування він знизився в 1,7 раза та залишався в 1,2 раза вищим за контрольні показники. Ми вважаємо, що динаміка концентрації ФСГ пов'язана зі зворотними зв'язками в системі гіпоталамус-гіпофіз-надниркові залози - і є відповіддю на нормалізацію рівня тестостерону. Загалом зафіксовані зміни в гормональному дзеркалі свідчать про позитивний вплив стовбурових гемопоетичних клітин на гормональне

забезпечення сперматогенезу, що є одним із можливих механізмів покращання сперматогенезу після застосування стовбурових гемопоетичних клітин.

Таблиця 2 - Вплив введення гемопоетичних прогеніторних клітин на параметри гормонів у чоловіків, хворих на секреторну безплідність ( $x \pm Sx$ )

Показник, що вивчався	Контроль, n=20	Гемопоетичні прогеніторні клітини, n=12	
		до лікування	після лікування
Глобулін, що зв'язує статеві гормони, nmol/L	32,36±0,22	33,74±1,38, p>0,217	33,02±1,14, p>0,478; p1>0,691
Лютеїнізуючий гормон, mIU/ml	5,01±0,07	5,98±0,56, p>0,035	5,45±0,24, p>0,04; p1>0,394
Пролактин, ng/ml	8,32±0,23	14,71±1,32, p<0,001	8,84±0,87, p>0,482; p1<0,001
Тестостерон загальний, nmol/L	27,49±0,27	14,16±1,12, p<0,001	26,53±2,17, p>0,576; p1<0,001
Тестостерон вільний, pg/ml	21,38±0,31	20,02±1,19, p>0,182	20,79±1,46, p>0,623; p1>0,687
Фолікулостимулювальний гормон, mIU/ml	4,72±0,17	9,13±0,62, p<0,001	5,77±0,53, p>0,03; p1<0,001
Естрадіол, pg/ml	21,10±0,22	22,37±0,97, p>0,121	21,94±1,14, p>0,368; p1>0,777

*Примітки:* p - ступінь достовірності різниць показників порівняно з контролем;  
p1 - ступінь достовірності різниць показників до та після лікування;  
n - кількість хворих у групі

Інші можливі механізми можуть ґрунтуватися на таких властивостях ГСК, як здатність до міграції в статеву систему та диференціювання в інші клітини (поліпотентність), але вивчення цього питання потребує подальших досліджень. У той самий час слід зазначити, що достовірні зміни рівня загального тестостерону не супроводжувалися достовірними змінами вільного тестостерону, який є фізіологічно активною формою цього гормону, крім того, порівняння зазначених показників з референтними значеннями показали, що у чоловіків, хворих на секреторну безплідність, рівень Тз був у межах референтних значень: 7,54 – 31,4 (нмоль/л) [2], також, як і рівень ФСГ (2 – 10 mIU/ml [2]).

Отримані дані не дозволяють аргументовано пояснити цей феномен. Можна припустити існування більш тонких та інтимних механізмів регуляції сперматогенезу з позицій так званої теорії «золотого трикутника гомеостазу» - імунонейроендокриної системи як єдиної функціональної системи, причому клітинно-тканинна трансплантація впливає не на її вузли, а на міжвузлові взаємодії [32]. У цілому, для остаточних висновків щодо місця трансплантації гемопоетичних прогеніторних клітин у лікуванні безплідності потрібні дослідження на більш репрезентативних вибірках.

## ВИСНОВКИ

1. Застосування гемопоетичних прогеніторних клітин при секреторній чоловічій безплідності забезпечує покращання концентрації та загальної кількості сперматозоїдів у 2,3 – 2,4 раза, рухливість покращується в 1,7 раза, тератоспермія та некроспермія – в 1,2 раза.

2. Одним із можливих механізмів покращання сперматогенезу при застосуванні прогеніторних гемопоетичних клітин є нормалізація гормонального балансу – рівня загального тестостерону та пролактину.

3. Застосування прогеніторних гемопоетичних клітин у 25% випадків забезпечує запліднення при чоловічому факторі подружньої неплідності, резистентному до традиційної терапії.

## SUMMARY

### THE EXAMINATION OF THE CLINICAL EFFECT OF THE PROGENITOR HAEMOPOETIC CELL APPLICATION IN THE TREATMENT OF SECRETORY INFERTILITES

*Y. Miroshnikov*

*We investigated and treat 12 patients with male factor of infertility, and after our usual therapy (antynflammation therapy, varicocele's correction, dezintositication), at regeneration step of reconstruction of spermatogenezise, was made transplantation of the progenitor haemopoetic cel by intravenous infusion.*

*We arrived the conception at amount of 3 (25 percents) of families, where early traditional therapy was unsuccessful. The analysis of spermogram's dynamics showed maximum effect at amount and concentration of spermatozoon's (more than 2 hundred percents), motility (increase in 1,7 hundred percents), signs of necrospermia and teratospermia (decrease at 20 percents).*

**Key words:** andrology, male infertilities, diagnosis, treatment, effectivity, progenitore haemopoetic cell.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Андрология. Мужское здоровье и дисфункция репродуктивной системы / под ред. Э. Нишлаг, Г.М. Бере. - М.: ООО "Медицинское информационное агентство", 2005. - 554 с.
2. Чоловіча неплідність. Патогенетичне обґрунтування лікування: метод. рекомендації / Ін-т урології АМН України. Укр. центр. наук.-мед. інформації та патент. - ліценз. роботи / уклад. І.І. Горпинченко, Ф.І. Костев, К.Р. Нуріманов, Р.Б. Чистяков. - К., 2006. - 16 с.
3. Сергеев С.А. Получение мультипотентных клеток из GPR125 + сперматогенных стволовых клеток / С.А. Сергеев, Ю.Б. Дьякова // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. - 2008. - № 2.
4. Zhou Y.C. Development and status quo of testis transplantation / Y.C. Zhou, Y.F. Huang // Zhonghua Nan Ke Xue. - 2008. - Vol. 14, N 11. - P. 1035-1039.
5. Recent advances in andrology-related stem cell research / [C. S. Lin, Z. C. Xin, C. H. Deng et al.] // Asian. J. Androl. - 2008. - Vol. 10, N 2. - P. 171 - 175.
6. Artyukhin A.A. A new method of culturing Leydig cells and prospects of their practical use in andrology / A.A. Artyukhin, E.I. Zaraiskii // Bull. Exp. Biol. Med. - 2007. - Vol. 143, N 1. - P. 155-159.
7. In vitro-differentiated embryonic stem cells give rise to male gametes that can generate offspring mice / [K. Nayernia, J. Nolte, H.W. Michelmann et al.] // Dev. Cell. - 2006. - Vol. 11, N 1. - P. 125-132.
8. Biology of hematopoietic stem cells and progenitors: Implications for clinical application / [M. Kondo, A. Wagers, M. Manz et al.] // An. Rev. Immunol. - 2003. - Vol. 21. - P. 759-806.
9. Репин В.С. Медицинская клеточная биология / В.С. Репин, Г.Т. Сухих. - М.: Изд-во Рос. акад. мед. наук: БЭБНМ, 1998.
10. Placental mesenchymal and cord blood stem cell therapy for dilated cardiomyopathy / [Т.Е. Ichim, F. Solano, R. Brenes et al.] // Reprod Biomed Online. - 2008. - Vol.16, N 6. - P. 898-905.
11. Protective effects of thrombopoietin and stem cell factor on X-irradiated CD34+ megakaryocytic progenitor cells from human placental and umbilical cord blood / [I. Kashiwakura, O. Inanami, K. Takahashi et al.] // Radiat Res. - 2003. - Vol. 160, N 2. - P. 210-216.
12. Stem cell collection filter system for human placental/umbilical cord blood processing / [M. Yasutake, M. Sumita, S. Terashima et al. ] // Vox. Sang. - 2001. - Vol. 80, N 2. - P. 101 - 105.

13. Чадаев В.Е. Модельный объект для определения возможности трансплантации криоконсервированной тестикулярной ткани в терапии человека / В.Е. Чадаев, И.В. Добрунова, К.А. Горьцев // Вісн. пробл. біології і медицини. – 2007. - № 3. – С.24-27.
14. Aboushwareb T. Stem cells in urology / T. Aboushwareb, A. Atala // Nat. Clin. Pract. Urol. – 2008. – Vol. 5, N 11. – P. 621-631.
15. The application of biomarkers of spermatogonial stem cells for restoring male fertility / K.T. Ebata, J.R.Yeh, X. Zhang, M.C. Nagano // Dis. Markers. – 2008. – Vol. 24, N 4-5. – P. 267-276.
16. Trounson A. The production and directed differentiation of human embryonic stem cells / A. Trounson // Endocr. Rev. – 2006. – Vol. 27, N 2. – P. 208-219.
17. Zhang W. Advances in testis transplantation / W. Zhang, J. Zhang, L. L. Wang // Zhonghua Nan. Ke Xue. – 2005. – Vol. 11, N 1. – P. 60 - 63.
18. Embryonic stem cells can form germ cells in vitro / Y. Toyooka, N. Tsunekawa, R. Akasu, T. Noce // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 2003. – Vol. 100, N 20. - P. 11457-11462.
19. Human Pumilio-2 is expressed in embryonic stem cells and germ cells and interacts with DAZ (Deleted in AZoospermia) and DAZ-like proteins / [F.L. Moore, J. Jaruzelska, M.S. Fox et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2003. – Vol. 100, N 2. – P. 538-543.
20. A highly homozygous and parthenogenetic human embryonic stem cell line derived from a one-pronuclear oocyte following *in vitro* fertilization procedure / [G.Lin, Q.OuYang, X.Zhou et al.] // Cell. Res. - 2007. - Vol. 17, № 12. - P. 999-1007.
21. Maintenance of mouse male germ line stem cells in vitro / [M. Nagano, B.Y. Ryu, C.J. Brinster et al.] // Biol. Reprod. – 2003. – Vol. 68. – P. 2207-2214.
22. Goossens E. Is there a clinical future for spermatogonial stem cells? / E. Goossens, H. Tournaye // Curr. Stem. Cell. Res. Ther. – 2007. - Vol. 2, N 3. – P. 189-195.
23. Restoration of spermatogenesis in infertile mice by Sertoli cell transplantation / T. Shinohara, K.E. Orwig, M.R. Avarbock, R.L. Brinster // Biol. Reprod. – 2003. – Vol. 68, N 3. – P. 1064-1071.
24. Kanatsu-Shinohara M. Brief History, Pitfalls, and Prospects of Mammalian Spermatogonial Stem Cell Research / M. Kanatsu-Shinohara, M. Takehashi, T. Shinohara // Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. – 2008. - N 6. [Epub ahead of print].
25. Niche players: spermatogonial progenitors marked by GPR125 / [M.Seandel, I.Falciatori, S.V. Shmelkov et al.] // Cell Cycle. – 2008. - Vol. 7, N 2. - P. 135-140.
26. Generation of functional multipotent adult stem cells from GPR125+ germline progenitors / [M. Seandel, D. James, S.V. Shmelkov et al.] // Nature. – 2007. - Vol. 449, N 7160. – P. 346 – 350.
27. Reproductive capacity of sperm obtained after germ cell transplantation in a mouse model/ [E. Goossens, V. Frederickx, G. De Block et al.] // Hum Reprod. – 2003. - Vol. 18, N 9. – P. 1874-1880.
28. Derivation of oocytes from mouse embryonic stem cells / [K. Hubner, G. Fuhrmann, L.K. Christenson et al.] // Science. - 2003. – Vol. 300, N 5623. – P. 1251-1256.
29. Embryonic stem cells can form germ cells in vitro / Y. Toyooka, N. Tsunekawa, R. Akasu, T. Noce // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 2003. – Vol. 100, N 20. - P. 11457-11462.
30. Калашникова Е.А. Антигены сперматозоидов и антиспермальные антитела, ассоциированные с бесплодием (обзор литературы) / Е.А. Калашникова // Пробл. репродукции. - 2004. –Т.10, № 4. – С. 55-60.
31. Богатирьова Р.В. Генетика репродуктивних втрат / Р.В. Богатирьова, О.Я. Гречанина. – К., 2003. – 206 с.
32. Грищенко В.И. Фундаментальные и клинические аспекты клеточной терапии / В.И. Грищенко, О.С. Прокопюк, Т.М. Юрченко // Доктор. – 2004. - № 4. – С. 5-8.

*Надійшла до редакції 5 жовтня 2010 р.*