کاربرد سلول‌های بنیادی در درمان اختلالات تولید مثلی مردان و زنان: مقاله مروری

نازنین رضائی[۱]، آزیتا تیزنوبیک[۲،۳]، صبا فرضی[۴]، حمید تقی‌نژاد[۵]، مهناز شفیعیان[۶]، صفورا طاهری[۳،۶*]

۱. کارشناس ارشد مامایی، مرکز تحقیقات تعیین کننده‌های اجتماعی سلامت، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم‌آباد، ایران.
۲. کارشناس ارشد مامایی، مرکز تحقیقات مراقبت مادر و کودک، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران.
۳. دانشجوی دکترای تخصصی بهداشت باروری، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
۴. دانشجوی دکترای تخصصی پرستاری، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
۵. استادیار گروه پرستاری، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران.
۶. کارشناس ارشد مامایی، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۶/۰۸ **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۶/۰۹/۰۵

خلاصه

مقدمه: سلول‌های بنیادی به آن دسته از سلول‌های بدن اطلاق می‌شود که هنوز تمایز نیافته و دارای قدرت خود تکثیری بوده و قابلیت تمایز و تبدیل به انواع دیگر سلول‌های بدن را دارند. با توجه به اهمیت و حساسیت باروری در جوامع بشری و تلاش جهت چاره‌جویی برای کاهش اختلالات باروری در مردان و زنان، مطالعه مروری حاضر با هدف بررسی کاربرد سلول‌های بنیادی در درمان اختلالات تولیدمثلی زنان و مردان انجام شد.

روش‌کار: در این مطالعه مروری، اطلاعات مربوط به کاربرد سلول‌های بنیادی در درمان اختلالات تولید مثلی مردان و زنان از پایگاه‌های اطلاعاتی نظیر SID، Magiran، PubMed، Irandoc، Iranmedx Scopus، Google Scholar و web of science با استفاده از کلید واژه‌های فارسی: سلول‌های بنیادی، اختلالات تولیدمثلی، مردان و زنان و کلید واژه‌های انگلیسی women، reproductive disordersmen، stem cell و infertility بدون محدودیت زمانی جستجو شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها به صورت کیفی انجام شد. در نهایت برای تنظیم مقاله از ۴۸ مقاله به زبان فارسی و انگلیسی استفاده گردید.

یافته‌ها: استفاده از سلول‌های بنیادی تخمدان و رحم و سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونیال در درمان ناباروری ناشی از شیمی‌درمانی، بیماری‌های اتوایمیون، بیماری‌های مرتبط با کروموزوم X، خطرات محیطی، اندومتریوز نوجوانی یا کیست‌های تخمدانی و کانسرهای تخمدانی قبل از یائسگی، حفظ باروری، پیشگیری از انتقال بیماری‌های ژنتیکی از کاربردهای سلول‌های بنیادی در علوم پزشکی می‌باشد که تعدادی از آنها در حیوانات و انسان و تعدادی دیگر فقط در حیوانات مورد بررسی و تأیید قرار گرفته است.

نتیجه‌گیری: سلول‌های بنیادی می‌توانند در درمان اختلالات تولیدمثلی زنان و مردان کاربردهای بسیاری داشته باشند، حال آنکه در مسیر استفاده از سلول‌های بنیادی در نمونه‌های انسانی چالش‌های تکنیکی و اخلاقی وجود دارد که نیازمند تأمل بیشتری می‌باشد.

کلمات کلیدی: حفظ باروری، ناباروری، سلول‌های بنیادی، زنان، مردان

* **نویسنده مسئول مکاتبات:** صفورا طاهری؛ دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران. **تلفن:** ۳۲۲۲۷۹۵۴-۰۸۴؛ **پست الکترونیک:** s_taheri@nm.mui.ac.ir

مقدمه

سلول‌های بنیادی به آن دسته از سلول‌های بدن اطلاق می‌شود که هنوز تمایز نیافته و برای کار ویژه‌ای تجهیز نشده‌اند. این سلول‌ها دارای قدرت خود تکثیری بوده و قابلیت تمایز و تبدیل به انواع دیگر سلول‌های بدن را دارند (۱). نخستین زمانی که دانشمندان به وجود سلول‌های بنیادی گمان بردند، در اوایل قرن ۲۰ و هنگامی بود که نمو رویان‌های ابتدایی را مورد بررسی قرار می‌دادند. نخستین تأیید وجود سلول‌های بنیادی، در اوایل دهه ۱۹۶۰ حاصل شد. جیمزتیل و ارنست مک کلوخ در بنیاد سرطان اونتاریو، در تورنتو کانادا، چگونگی تخریب سلول‌های خون موش‌های آزمایشگاهی را به وسیله تابش بررسی کردند. آنان دریافتند که می‌توانند با تزریق سلول‌های مغز استخوان موش‌های دیگر دارای ژنتیک مشابه به موش‌های مورد آزمایش، مقدار لازم سلول‌های خون این موش‌ها را تأمین کنند و مانع مرگ آن‌ها شوند. تاریخچه پژوهش درباره سلول‌های بنیادی نشان می‌دهد که شناسایی این سلول‌ها کار ساده‌ای نیست. سلول‌های بنیادی برخلاف سلول‌های عصبی، سلول‌های خون و دیگر سلول‌های بالغ، ظاهر مشخصی ندارند. بنابراین پژوهشگران، سلول‌های بنیادی را بر اساس توانایی‌هایی که دارند توصیف می‌کنند، نه از روی شکل و اندازه آن‌ها. پژوهشگران سلول‌هایی را که کشت (رشد) می‌دهند، همواره مورد آزمایش قرار می‌دهند تا ببینند آیا این سلول‌ها ویژگی‌هایی را که باید نشان دهند را نشان می‌دهند یا خیر (۲). سلول‌های بنیادی بر اساس توانایی تکثیر و تمایز به انواعی تقسیم می‌شوند: ۱) سلول‌های بنیادی Totipotent یا همه‌توانی: این سلول‌ها می‌توانند به هر نوع سلولی در بدن تغییر پیدا کرده و تبدیل شوند. از جمله این سلول‌ها، تخمک بارور شده یا سلول‌های تولید شده در تقسیمات یک تخمک بارور شده می‌باشد. ۲) سلول‌های بنیادی Pluripotent یا پرتوانی: این سلول‌ها که از سلول‌های بنیادی رویان منشأ می‌گیرند، حدود ۴ روز پس از لقاح به وجود می‌آیند و می‌توانند به هر نوع سلولی به جز سلول‌های بنیادی همه‌توانی و سلول‌های جفت تبدیل شده و تمایز حاصل کنند. ۳) سلول‌های بنیادی Multipotent یا چندتوانی: این سلول‌ها از سلول‌های بنیادی پرتوانی منشأ می‌گیرند و سلول‌های تخصص یافته از آنها ناشی می‌شوند. برای مثال سلول‌های بنیادی خون‌ساز که در مغز استخوان وجود دارند می‌توانند به همه انواع سلول موجود در خون تبدیل شوند: مانند گلبول قرمز، گلبول سفید و پلاکت. یا سلول‌های بنیادی عصبی که می‌توانند به سلول‌های عصبی و سلول‌های حمایت کننده عصبی تبدیل شوند و ۴) سلول‌های بنیادی Unipotent یا تک‌توانی: این نوع سلول‌ها می‌توانند فقط به یک نوع سلول تبدیل شده و آن را تولید کنند (۳).

می‌توان گفت سلول‌های بنیادی بالغ به چند دسته تقسیم می‌شوند که شامل "سلول‌های بنیادی بالغ متعهد بافتی" و "سلول‌های بنیادی بالغ غیر متعهد بافتی" است و ممکن است در بافت‌های مختلف بدن مشاهده شوند. سلول‌های گروه اول توانایی کمتری برای تمایز به انواع مختلف سلول‌های بدن دارند، زیرا به بافتی که در آن مستقرند متعهد بوده و مسئول بازسازی و ترمیم آن بافت خاص می‌باشند. از جمله این سلول‌های بنیادی می‌توان به سلول‌های بنیادی اسپرم‌ساز یا همان اسپرماتوگونیای تمایز نیافته اشاره کرد. گروه دوم شامل سلول‌هایی هستند که با آنکه در بافت خاصی مستقر هستند، ولی فقط به آن بافت متعهد نبوده و می‌توانند به بافت‌های دیگر نیز تبدیل شوند. از جمله این سلول‌ها می‌توان به سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان اشاره کرد (۱). این سلول‌ها در شرایط مناسب، پی در پی تقسیم می‌شوند و سلول‌های رویانی دیگری را تولید می‌کنند. در سال‌های اخیر، دانشمندان زیادی سلول‌های بنیادی را کانون پژوهش‌های خود ساخته‌اند. توجه کم نظیر به سلول‌های بنیادی، سه علت اصلی دارد: ارزش آن‌ها برای پژوهش‌های پایه، دورنمای استفاده از آن‌ها برای درمان بیماری و آسیب دیدگی و امکان به کارگیری آن‌ها در تولید داروهای جدید. دانشمندان بسیاری عقیده دارند که سلول‌های بنیادی به نیاز موجود برای دارو و درمان‌های جدیدی که ممکن است رنج آدمی را کم کنند، پاسخ خواهند داد. ترمیم بافت‌های آسیب‌دیده قلب، ترمیم بافت‌های استخوانی، درمان بیماری‌ها و ضایعات عصبی، ضایعات نخاعی، ترمیم سوختگی‌ها و

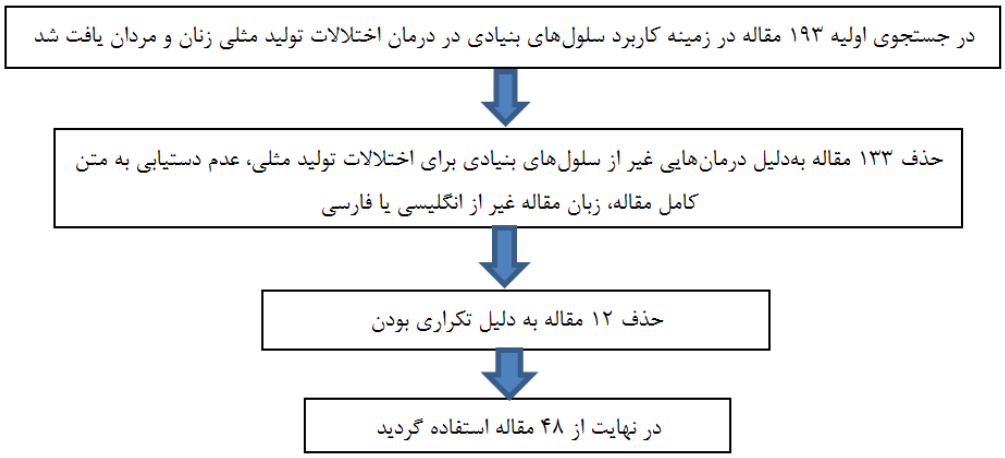
ضایعات پوستی، ترمیم لوزالمعده و ترشح انسولین، آزمون تأثیر داروهای جدید، استفاده از سلول‌های بنیادی بالغ برای طب پیوند، درمان پارکینسون (۲)، درمان ناباروری، حفظ باروری، اختلالات رحمی، پیشگیری از انتقال بیماری‌های ژنتیکی، ناباروری ناشی از شیمی درمانی، اختلالاتی مانند بیماری‌های خودایمنی، بیماری‌های مرتبط با کورموزوم X، خطرات محیطی، اوفورکتومی در بدخیمی‌های تخمدان، اندومتریوز نوجوانی یا کیست‌های تخمدانی و سرطان‌های تخمدانی قبل از یائسگی (۴) از کاربردهای سلول‌های بنیادی در علوم پزشکی می‌باشند که تعدادی از آنها در حیوانات و انسان و تعدادی دیگر فقط در حیوانات مورد بررسی و تأیید قرار گرفته است. در سال‌های اخیر تلاش‌های گسترده‌ای جهت تبدیل سلول‌های بنیادی به سلول‌های جنسی بارور در شرایط آزمایشگاهی یا شناسایی رده‌های مختلف سلول‌های بنیادی جنسی و کاشت و پیوند آنها از یک حیوان یا انسان به حیوان یا انسان دیگر انجام شده است و گزارشات امیدوار کننده‌ای از موفقیت‌های به‌دست آمده نیز وجود دارد. امروزه همراه با پیشرفت علم پزشکی، روش‌های مختلف و نوینی در مسائل مربوط به تولید مثل (اعم از انسانی و حیوانی) کشف و ابداع شده که هر یک به فراخور خصوصیات خود کاربردهای گسترده‌ای در حل مسائل تولید مثلی دارند. روش‌هایی مانند استفاده از IVF، تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم، انجماد سلول‌های جنینی، تولید آزمایشگاهی جنین و ذخیره آن در سرما، استفاده از سلول‌های بنیادی و ...، از جمله روش‌های نوینی هستند که امروزه تقریباً به طور گسترده در سرتاسر دنیا در خدمت حل مشکلات باروری هستند و روش‌های زیست فناوری تولید مثلی نامیده می‌شوند. در این میان از جمله جدیدترین مباحثی که در مورد زیست فناوری تولید مثلی مطرح است، استفاده از سلول‌های بنیادی اعم از "جنینی و بالغ" در تهیه سلول‌های جنسی و استفاده از آنها در تولید جنین است (۱). سلول‌های بنیادی مزانشمیال هم اتولوگ (بافت خود بیمار) و هم آلوژنیک (بافت بند ناف) برای درمان ناباروری مؤثر شناخته شده است. زمانی که این سلول‌ها در خون تزریق می‌شوند با تولید آنزیم‌ها و فاکتورهایی باعث بازتولید سلول‌ها شده و در ترمیم بافت‌های آسیب دیده مؤثر می‌باشند (۵). امروزه در سیستم تولید مثل مردان و زنان قسمت‌های مختلف سلول‌های بنیادی شناسایی شده‌اند که جزء سلول‌های بنیادی بالغین هستند که بسیاری از این سلول‌ها توانایی تمایز و بازسازی یا نوسازی بافتی که جزءآن هستند را دارند (۶). یافته‌های اخیر نشان می‌دهد سلول‌های بنیادی جنینی (ES)[1] موشی می‌توانند در موجود زنده و نیز در شرایط آزمایشگاهی با موفقیت به سلول‌های زاینده بدوی (PGCs)[2] و گامت‌های نر و ماده بالغ تمایز یابند. سلول‌های بنیادی جنینی انسانی نیز می‌توانند به PGCها تمایز یابند. همچنین به‌تازگی نشان داده شده است که انواع سلول‌های بنیادی بزرگسال نیز تا حدودی این قابلیت را از خود نشان می‌دهند. ظاهراً تمایز سلول‌های بنیادی جنینی به مراحل مختلف سلول‌های زاینده فرآیندی خودبه‌خودی و سریع است که می‌تواند ناشی از ماهیت خود سلول‌های بنیادی جنینی یا شرایط ریز محیط کشت باشد که به نفع این فرآیند است. اگرچه عملکرد داشتن این گامت‌های مشتق از سلول‌های بنیادی جنینی باید مورد تأیید قرار گیرد، اما این موفقیت‌ها می‌تواند به درک بهتر اساس زیست‌شناسی تولیدمثل و به ویژه با تلفیق با فناوری انتقال هسته به شبیه‌سازی درمانی و درمان ناباروری کمک کند (۷). نتایج تحقیقات تیمی از دانشمندان بین‌المللی نشان داده است که صرف نظر از جنس اهداء کننده، ایجاد اسپرم و تخمک از سلول‌های بنیادی پوست افراد بالغ امکان‌پذیر است. این پیشرفت غیر منتظره هم می‌تواند به مردان و زنان نابارور کمک کند. دانشمندان دانشگاه کمبریج انگلستان توانستند با استفاد از پوست ۱۰ اهداء کننده متفاوت، سلول‌های بنیادی انسان جدید را بیافرینند. ثابت شده است که این سلول‌های بنیادی کاملاً مشابه سلول‌های بنیادی انسان طبیعی است که از جنین‌های سقط شده به دست آمده است (۸). تحقیقات در ماساچوست جهت تولید سلول تخم از سلول‌های بنیادی در تخمدان انجام گرفته است و سلول‌های بنیادی به

[1] Embryonic Stem Cells
[2] Primordial Germ Cells

بافت تخمدانی تزریق شده و سپس در زیرپوست موش قرار داده شدند و بعد از دو هفته سلول‌های تخم شکل گرفتند؛ این نتایج نیازمند انجام مطالعات بیشتری برای تأیید شدن و استفاده ایمن دارند (۹). دانشمندان دانشگاه کالیفرنیا در لس‌آنجلس موفق به شناسایی مسیری شدند که در آن سلول‌های بنیادی به سلول تخمک تبدیل می‌شوند. پژوهش جدید این محققان در پرورش این سلول‌های زایا می‌تواند به دانشمندان در یادگیری چگونگی تولید آنها در آزمایشگاه کمک کند. اگرچه سن تولیدمثل انسان بین ۱۵ تا ۴۵ سالگی است، سلول‌های پیش‌ساز که سلول‌های اسپرم و تخمک انسان را می‌سازند، بسیار قبل‌تر و در زمانی که تخمک بارور شده به شکل یک توپ کوچک سلولی در رحم مادر ایجاد می‌شود، این توپ سلولی حاوی سلول‌های بنیادی شبه جنینی بوده که قابل برنامه‌ریزی برای تبدیل به هر نوع سلول در بدن هستند و محققان امیدوارند بتوانند از آنها برای درمان بیماری‌های مختلف مانند ناباروری استفاده کنند. این در حالی است که به دلیل حساسیت کار با بافت انسان، اطلاعات کمی در مورد مراحل ابتدایی رشد گامت‌های انسانی در دست بوده و بیشتر کارها در این حوزه شامل انجام آزمایشات بر روی موش‌ها بوده است (۱۰). با توجه به اهمیت درمان اختلالات سیستم تولیدمثلی در زنان و مردان و نقش سلول‌های بنیادی، مطالعه مروری حاضر با هدف بررسی کاربرد سلول‌های بنیادی در درمان اختلالات تولیدمثلی زنان و مردان انجام شد.

روش‌کار

در این مطالعه، مروری ساده با استفاده از پایگاه‌های اطلاعاتی معتبر SID، Magiran، PubMed، Irandoc، Scopus، Iranmedx، web of science و scholar Google با استفاده از کلید واژه‌های فارسی سلول‌های بنیادی، اختلالات تولیدمثلی، مردان و زنان و کلید واژه‌های انگلیسی Reproductive، stem cell، infertility، women و disordersmen بدون محدودیت زمانی انجام شد. در ابتدا تمام مقالات مرتبط با کاربرد سلول‌های بنیادی در اختلالات تولید مثلی جمع‌آوری گردید و سپس مقالاتی که به‌صورت چکیده بوده و یا به زبان غیر از انگلیسی و فارسی چاپ شده بودند یا سایر درمان‌های اختلالات تولیدمثلی را بیان کرده بود، حذف شدند. معیارهای ورود به مطالعه شامل: درج کلمات مورد جستجو در بخش عنوان و کلید واژه‌های مقالات بود. در مواردی از منابع درج شده در مقالات جستجو شده نیز استفاده گردید. در نهایت از تعداد ۲۰۳ مقاله جستجو شده در پایگاه اطلاعاتی نامبرده، ۴۸ مقاله برای تنظیم مقاله حاضر استفاده شد. نمودار شکل ۱ نحوه انتخاب مقالات را نشان می‌دهد.



شکل ۱- نمودار انتخاب مقالات

یافته‌ها

کاربرد سلول‌های بنیادی در درمان ناباروری:

ناباروری دغدغه ۱۵-۱۰٪ مردم دنیاست. طبق اعلام سازمان جهانی بهداشت تعداد زوجین نابارور دنیا به ۵۱۰ میلیون زوج می‌رسد. یکی از روش‌های جدید درمان ناباروری، استفاده از سلول‌های بنیادی برای مردان و زنانی است که توانایی تولید نطفه ندارند. آزمایش‌های مطالعات حیوانی این روش در ایران بر روی موش انجام شده و موفقیت‌آمیز بوده است. فاز انسانی مطالعه این روش هم شروع شده که اگر به جواب نهایی برسد، تحول مهمی در درمان ناباروری محسوب می‌شود. بر اساس مطالعات انجام شده، ۹۰٪ زوجین نابارور می‌توانند با استفاده از یکی از روش‌های درمانی موجود، صاحب فرزند شوند. استفاده از سلول‌های بنیادی می‌تواند مشکل ۱۰٪ باقی‌مانده را حل کند. سلول‌های بنیادی جنینی به واسطهٔ ویژگی پُرتوانی بالا، قادرند به انواع مختلفی از سلول‌ها تبدیل شوند. حتی بر اساس گزارش‌های اخیر، محققان توانسته‌اند در شرایط آزمایشگاهی، با استفاده از این سلول‌ها، تخمک و اسپرم نیز تهیه کنند. این توانایی که بتوان سلولی مانند اسپرم یا تخمک تولید نمود که تقسیم میوز انجام داده و زایا باشد، از ارزش بسیار بالایی برخوردار است. این ایده روش بسیار ارزشمندی است که در آینده، تحول بسیار بزرگی در درمان افراد نابارور ایجاد خواهد کرد (۲).

کاربرد سلول‌های بنیادی در باروری زنان:

سلول‌های بنیادی ژرم در تخمدان پستانداران بالغ (GSCs) جمعیتی از سلول‌های ژرم با توانایی خود نوسازی هستند که به عنوان منبع گامتوژنز محسوب می‌شوند. این سلول‌ها در شکل‌های گوناگون در تعدادی از ارگانسیم‌ها اعم از مگس سرکه ملانوگاستر تا پستانداران وجود دارند (۱۱). سلول‌های بنیادی ژرم در مگس‌های سرکه مؤنث، تولید اووسیت در تخمدان بالغ را ابقاء می‌کنند (۱۲). پستانداران مؤنث با تعداد مشخصی از فولیکول‌های بدوی اولیه بدون رشد متولد شده و در طول عمر تعداد اووسیت‌ها کاهش یافته و در نهایت سلول‌های ژرم تخمدان کاهش می‌یابد (۱۷-۱۳) که در انسان همراه با رویداد منوپوز می‌باشد (۱۸). در سال ۲۰۰۴ جانسون نشان داد که وجود سلول‌های ژرم بنیادی، تولید فولیکول و اووسیت‌ها در دوره بعد از نوزادی را در تخمدان بالغین افزایش می‌دهد (۱۹). بوکوکسی و همکاران (۲۰۰۴) ادعا کردند که این سلول‌ها و شکل‌گیری فولیکول‌های بدوی در تخمدان را شناسایی نموده‌اند (۲۰). این سلول‌ها می‌توانند از سلول‌های بنیادی که تونیکا آلبوژینه تخمدانی را پوشانیده‌اند تشکیل شوند. مطالعات پیشنهاد می‌کنند که وجود این سلول‌های پرولیفراتیو باعث حفظ تولید فولیکول و اووسیت در تخمدان پستانداران شده، اما با این وجود کودکی از این اووسیت‌ها متولد نشده است (۲۱، ۲۲) و عملکرد آن اووسیت‌ها در حال بررسی است. چندین مطالعه ادعا نموده‌اند که سلول‌های بنیادی عملکردی در تخمدان در دوران پس از نوزادی از چندین گونه متفاوت شامل انسان‌ها یافت شده‌اند که به‌تدریج شواهد تجربی در حال افزایش در مورد وجود آنها است (۲۳). در مطالعه زو و همکاران (۲۰۰۹) وجود سلول‌های بنیادی پرتوان در موش‌های بالغ و نوزاد مورد تأیید قرار گرفت که در زمانی که این سلول‌های بنیادی جداسازی و در موش عقیم پیوند زده شده، اووسیت‌هایی عملکردی ایجاد شدند (۲۴). اخیراً نیز در مطالعه وایت و همکاران (۲۰۱۲) یک جمعیت نادر از سلول‌های ژرم فعال میتوزی در تخمدان‌های زنان خالص‌سازی، کشت داده شده و در محیط آزمایشگاهی به طور خود به خود به اووسیت تبدیل شدند (۲۵) که آن سلول‌ها، سلول‌های بنیادی ژرم (GSCs)[1] نامیده می‌شوند که از تخمدان‌های انسانی در سنین باروری جدا می‌شوند. در زمینه وجود سلول‌های بنیادی بهینه در تخمدان‌های پستانداران و کاربرد آنها در بین مطالعات تناقضاتی وجود دارد. اگوزیبال و همکاران (۲۰۱۱) برای تولید سلول‌های مؤنث هاپلوئید از سلول‌های بنیادی پرتوان انسانی اقدام نمودند که نه تولید اووسیت و نه پیش‌بینی برای اپلوزوم عملکردی توانمند بر ایجاد باروریدر مطالعه آنها وجود نداشت (۲۶). با این وجود هیاشی و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که سلول‌های بنیادی موش می‌تواند در یک محیط آزمایشگاهی و زنده به سلول‌های اووسیت مشابه

[1] Germline Stem Cells

که قادرند به وسیله اسپرماتوزا بارور شده و فرزند طبیعی ایجاد نمایند، تمایز یابند (۲۷). با وجود اینکه این مطالعات هنوز نتایج قطعی نداشته‌اند، ولی این اووسیت‌های عملکردی در درمان زنان عقیم شده در اثر مداخلات پزشکی، برخورد با سموم و نارسایی زودرس تخمدان قدمی اساسی هستند (۲۸). تیوکا و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند که سلول‌های بنیادی اپیدرمال می‌تواند در سلول‌های ژرم سل در محیط آزمایشگاهی تولید شده (۲۹) و گلیجسن و همکاران (۲۰۰۴) دریافتند که تزریق آن گامت‌های مردانه هاپلوئید کشت داده شده در تخمدان غیر باورر شده، منجر به تکامل رویان به مرحله اولیه بلاستوسیت می‌شود (۳۰). هابنرو همکاران (۲۰۰۳) بیان نمودند که سلول‌های بنیادی اپیدرمال موش در کشت ممکن است به اوگونیا توسعه یافته، وارد میوز شده و بعداً به بلاستوسیت تبدیل شوند (۳۱). سال‌ها قبل بنسون و همکاران (۲۰۰۴) مطرح کردند که در بالغین مؤنث انسانی، سلول‌های بنیادی اووگونیال (OSE)[1] یک منبع برای سلول‌های ژرم سل می‌باشند (۳۲). مطالعات انجام شده در سلول‌های بنیادی اووگونی در محیط آزمایشگاهی، مشاهدات مربوط به محیط زنده را در تخمدان انسان بالغ تأیید می‌کنند. این سلول‌ها یک منبع دوسویه از اووسیت و سلول‌های گرانولوزا هستند. علاوه بر این بر اساس اطلاعات به‌دست آمده سلول‌های ژرم سل ممکن است از سلول‌های مغز استخوان مشتق شوند. مارکرهای ژرم سل در سلول‌های مغز استخوان موش مؤنث بالغ بیان شده‌اند (۳۶-۳۲). جانسون و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردندکه اووسیت‌های منشأ گرفته از سلول‌های ژرم مشتق شده از مغز استخوان، از طریق خون محیطی از تخمدان‌ها توزیع شده‌اند (۳۷). بنابراین انتقال مغز استخوان، تولید اووسیت در موش وحشی عقیم شده توسط شیمی درمانی و نیز موش‌هایی که به دلیل نقص ژنی توانایی تولید اووسیت را ندارند را بازتولید می‌کند، بنابراین پیشنهاد شده است که سلول‌های مغز استخوان منبع بالقوه‌ای برای سلول‌های ژرم سل هستند که می‌توانند تولید اووسیت در بالغین را القاء نمایند. در سال ۲۰۰۷ گزارش شد که انتقال مغز استخوان باعث تولید اووسیت‌های نارس شده و سبب باروری بلندمدت در موش‌هایی که نارسایی زودرس تخمدان القایی توسط شیمی درمانی داشتند، شده است (۳۸). با کار بر روی سلول‌های انسانی، دانشمندان ژاپنی قادر به بازیابی سلول‌های باروری از تخمدان‌های زنان تحت انتساب مجدد جنسی به دلیل اختلال هویت جنسی بوده و آنها توانستند جداسازی و بازیابی سلول‌های باروری و تولید سلول‌های تخم نارس در آزمایشگاه را انجام دهند. آنها سپس سلول‌های تخم را به موش تزریق کرده، فولیکول‌ها و تخم‌های رسیده را تولید کردند. اما با این وجود این نتایج نیازمند تحقیقات بیشتری می‌باشد (۴)؛ این نتایج نیازمند بررسی بیشتری در سطح غیر انسانی و انسانی دارد؛ چراکه برخی مطالعات نشان داده‌اند که هیچ شواهدی مبنی بر اینکه مغز استخوان یا هر سلول در گردش دیگری سبب شکل‌گیری اووسیت رسیده و القای تخمک‌گذاری شده باشد، وجود ندارد (۳۹). بنابراین موضوع منشأ سلول‌های ژرم سل در پستانداران مؤنث نیازمند مطالعات بیشتری است. با توجه به زاینده بودن سلول‌های بنیادی، در صورت موفقیت‌آمیز بودن نتایج، طول دوران باروری زنان طولانی‌تر شده و در کسانی که به دلایل مختلف تولید تخمک متوقف شده است، کمک کننده است. در سیستم تولید مثل زنان، سلول‌های بنیادی در رحم، تخمدان و غده پستان شناسایی شده و امروز در جریان جداسازی آن تلاش می‌شود. آزمایش‌های حوزه زنان در دنیا بسیار جدید بوده و گروه‌های محقق در این عرصه روی جداسازی قسمت‌های مختلف، خالص‌سازی و تکثیر مطالعه می‌کنند (۶). باروری زنان از طریق سلول‌های بنیادی تمایز یافته خود آنان از نظر علمی و تئوریک میسر است؛ چراکه اگر بتوان از مغز استخوان زنان اسپرم تولید کرد و آن را با ویژگی خاصی که در تخمک وجود دارد به جنین سه یا چهار روزه تبدیل کرد، فرد می‌تواند با استفاده از سلول بنیادی جنینی خود که به اسپرم تبدیل شده، بارور شود (۴۰).

کاربرد سلول‌های بنیادی در حفظ باروری در زنان از طریق پیوند بافت فریز شده تخمدانی:

[1] Oogonial *stem cells*

در سال ۲۰۰۴ یک تولد زنده موفقیت‌آمیز بعد از پیوند خارجی بافت تخمدانی فریز شده در زنی که تخمدان وی توسط شیمی درمانی آسیب دیده بود، گزارش شد (۴۱). در زنانی که دچار سرطان می‌شوند به دلیل حساسیت بالای تخمدان‌ها و سلول‌های ژرم به شیمی درمانی و پرتودرمانی، ناباروری یک عارضه شایع می‌باشد (۴۲). در این زنان به‌ویژه زنان جوان درمان شده از سرطان، درمان‌هایی مانند فریز اووسیت، فریز جنین و فریز بافت قشری تخمدان برای نجات آنها از نازایی وجود دارد. اگرچه ذخیره اووسیت در موش‌ها به صورت موفقیت‌آمیزی انجام شده است، اما در انسان‌ها میزان موفقیت ذخیره اووسیت محدود شده است (۴۸-۴۳). پیوند تخمدان یک تاریخچه طولانی دارد که به نیمه قرن ۱۹ برمی‌گردد، با این وجود پیشرفت‌های اندکی تا نیمه قرن ۲۰ داشته است. از زمان تکامل روش‌های فریز در دهه ۱۹۵۰، محققین شروع به گزارش موفقیت‌آمیز فریز و پیوند بافت تخمدانی در موش‌ها و خرگوش‌ها کردند (۵۳-۴۹). اخیراً اوکوتی و همکار (۲۰۰۰) تخمک‌گذاری بعد از پیوند بافت تخمدانی فریز شده در گوشه دیواره لگن در یک زن ۲۹ ساله که تحت جراحی سالپنگواووفورکتومی قرار گرفته بود را گزارش کردند (۵۴). در سال ۲۰۰۴ تولید رویان ۴ سلولی از ۲۰ اووسیت مشتق شده از بافت انتقالی از پوست در بیماری که دچار منوپوز القایی شیمی درمانی شده بود، گزارش گردید (۵۵). در همان سال یک تولد زنده بعد از انتقال بافت تخمدانی در پریمات غیر انسانی گزارش شد (۵۶). دنز و همکاران (۲۰۰۴) پیوند تخمدانی به بیمار نابارور ناشی از شیمی درمانی، القای سیکل‌های خونریزی منظم، تکامل فولیکل‌ها و جسم زرد طبیعی و در نهایت پس از ۱۱ ماه مثبت شدن تست حاملگی و سپس تولد زنده بعد از پیوند از بافت تخمدان فریز شده را گزارش کردند (۴۱)؛ با این وجود این روش درمانی در حال تکامل نیازمند به مطالعات بیشتری است. این روش درمانی امیدی برای درمان ناباروری است، اما نگرانی که از این روش وجود دارد این است که بافت فریز شده ممکن است حاوی سلول‌های سرطانی باشد که در این زمینه برخی مطالعات پیشنهاد می‌کنند پیوند بافت تخمدانی افراد مبتلا به بیماری هوچگین ایمن بوده است (۵۸، ۵۷، ۵۱). با این وجود مطالعه شاو و همکاران (۱۹۹۶) نشان دادند که گرافت‌های تخمدانی از نوعی از موش‌ها می‌تواند لنفوما را به حیوانات دیگر منتقل کند (۵۹). علاوه بر این اگرچه فریز بافت تخمدانی کاملاً موفقیت‌آمیز بوده است (بیشتر از ۷۰٪ بقاء فولیکول‌های بدوی بعد از فریز)، اما هنوز اطلاعات کافی از اینکه چه مقدار فولیکول در این رویکرد از بین می‌رود وجود ندارد (۶۰). سیلبر و همکاران (۲۰۰۵) تولد دختر سالم در خانم ۲۴ ساله که در سن ۱۴ سالگی مبتلا به نارسایی زودرس تخمدان شده بود، بعد از پیوند بافت کورتکس تخمدان از خواهر دوقلوی همسانش که تخمدان طبیعی و ۳ فرزند داشت را اعلام کردند (۶۱). دنز و همکاران (۲۰۰۷) یک حاملگی موفقیت‌آمیز از پیوند بافت تخمدان خواهر غیر همسان را گزارش کردند (۶۲). سیلبر و همکاران (۲۰۰۸) بیشتر از ۱۰ پیوند تخمدان موفق در دوقلوهای مونوزیگوت قبل از نارسایی زودرس تخمدان در یک فرد دوقلو و ۲ کودک سالم متولد شده را گزارش نمودند (۶۳).

سلول‌های بنیادی در رحم و کاربرد این سلول‌ها در درمان اختلالات رحمی:

آندومتر رحمی در پستانداران یکی از بافت‌های انسانی شدیداً دینامیک است که محتوی استروما و اپی‌تلیال عملکردی بوده که کاملاً با سیکل قاعدگی به صورت ماهانه بازسازی می‌شوند. سلول‌های بنیادی اندومتریال در لایه قاعده‌ای قرار داشته و منبعی از سلول‌های که به شکل اندومتریوم متمایز می‌شوند به حساب می‌آیند. بیش از ۱۰ سال قبل مطرح شد که بازسازی سیکل اندومتری به سلول‌های بنیادی چندتوانه وابسته است (۶۴). تحت تغییرات هورمونی سیستمیک مانند افزایش دوره‌ای در سطح استرادیول سرم، با مهاجرت سلول‌های بنیادی، سلول‌های پیش‌سازی که سبب ایجاد انواع سلول‌های تمایز یافته می‌شوند را افزایش می‌دهند. مانند سلول‌های اپی‌تلیال، سلول‌های استروما و سلول‌های عروقی. سلول‌های بنیادی داخلی جهت حفظ حاملگی به سلول‌های اندومتری اجازه بازتولید سریع خود را می‌دهند. هیچ شواهد مستقیمی در این زمینه تا سال

۲۰۰۴ وجود نداشت. از آن سال به بعد دو مطالعه شواهدی از بازتولید دوره‌ای این سلول‌ها را نشان دادند (۶۵، ۶۶). تیم تحقیقاتی با راهنمایی گارجت نشان دادند که آندومتر زنان حاوی جمعیت کوچکی از سلول‌های بنیادی اپی‌تلیال و استروما برای بازتولید سلول‌های غددی و استرومای اندومتری و لکوژنیستی آن سلول‌ها هستند (۶۵). بعد از آن گروه دیگری نشان دادند که آندومتر انسانی محتوی تعداد کمی سلول با ویژگی‌های سلول‌های پیش‌ساز یا بنیادی استرومای اندومتریال است که به نظر می‌رسد جزء خانواده سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSCs) هستند (۶۷). مطالعات دریافتند که مغز استخوان یک منبع خاص از سلول‌های اندومتریال است (۶۶)؛ به صورتی که در سال ۲۰۰۴ وجود این سلول‌ها در دریافت کنندگان مغز استخوان با بیماری لکومیا گزارش شد. در سال ۲۰۰۷ گزارش شد که بعد از انتقال مغز استخوان، سلول‌های مغز استخوان مشتق شده از یک مرد، در آندومتر رحمی موش مؤنث یافت شده است؛ اگرچه به صورت غیرمعمولی آن سلول‌ها ممکن است به سلول‌های اپی‌تلیال متمایز شوند (۶۸). این گروه همچنین اندومتریوزیس را در مدل موشی به‌وسیله کاشت آندومتر نابه‌جا در حفره پریتون ایجاد نموده و توانستند در آندومتر خارجی، سلول‌های بیان کننده LACZ را بعد از انتقال مغز استخوان در نوعی موش مشاهده کنند. نتایج نشان داد که سلول‌های مشتق شده از مغز استخوان در اندومتریوزیس مشارکت دارند. پیشنهاد شده است که بازیابی آندومتر با سلول‌های بنیادی مشتق شده از مغز استخوان ممکن است در جهت فیزیولوژی آندومتر فعال مهم بوده و همچنین در توضیح سلولی در زمینه شکست طولانی مدت درمان‌های حفاظتی پیشگیری از انجام هیسترکتومی کمک کننده باشد. آندومتر ممکن است بعد از حذف منبع سلول‌های بنیادی خارج از رحمی بازتولید شود. گزارش‌های دیگری مجدد تأیید کردند که سلول‌های پیش‌ساز مغز استخوان در اپی‌تلیوم رحمی مشارکت دارند (۶۹). در سال ۲۰۰۸ نشان داده شد که سلول‌های اندوتلیال مشتق شده از مغز استخوان در شکل‌گیری رگ‌های خونی در آندومتر نقش دارند (۷۰).

این یافته‌ها کاربرد بالقوه‌ای برای درمان اختلالات رحمی از جمله خونریزی غیر طبیعی رحمی، ناباروری، حاملگی عارضه‌دار، سقط خودبه‌خودی و سرطان دارند. همچنین این یافته می‌تواند تأیید کننده اتیولوژی اندومتریوزیس مبنی بر منشأ گرفتن از تمایز سلول‌های بنیادی باشد. مطالعه انتی آنکر و همکاران (۲۰۰۴) نشان داد که سول‌های اندومتریال مشتق شده از سلول‌های بنیادی مغز استخوان می‌توانند آندومتر را تولید نموده که این موضوع می‌تواند کاربرد بالینی برای بنا نمودن و ابقای حاملگی، درمان اختلالات رحمی و به صورت درمانی تقویت تبدیل سلول‌های بنیادی به آندومتر را داشته باشد. یافته‌ها نشان دادند که سلول‌های رحمی می‌توانند از سلول‌های مغز استخوان دهنده ایجاد شوند (۷۱). از سویی نشان داده شده است که سلول‌های مغز استخوان پیوند شده در آندومتر موش، سلول‌های اپی‌تلیال و استرومایی از منشأ سلول‌های بنیادی تولید می‌شوند. داده‌ها نشان دادند که سلول‌های بنیادی در بازسازی یا ترمیم بافت بعد از صدمه نقش دارند (۷۲). علاوه بر کاربرد سلول‌های بنیادی در درمان اختلالات رحمی، مطالعات نشان داده‌اند که بافت آندومتر انسانی در زنان سنین باروری بعد از کشت و آنالیز آن به سلول‌های مختلف عضلانی، غضروفی و ... تمایز می‌یابند. در مطالعات جدیدتر مشخص شده است که سلول‌های بنیادی مشتق شده از آندومتر می‌توانند به سلول‌های عصبی تبدیل شوند که می‌توانند دوپامین تولید کنند و در درمان بیماری پارکینسون مفید باشند. با توجه به اینکه بافت آندومتر به آسانی به دست می‌آید، می‌تواند منبع مهمی برای سلول‌های بنیادی در درمان‌های سلول محور در آینده باشد (۷۴، ۷۳).

کاربرد سلول‌های بنیادی در جفت و بندناف:

به‌نظر می‌رسد سلول‌های بنیادی خون و ماتریکس بندناف، حد واسط سلول‌های بنیادی جنینی و بالغ هستند. در سال ۱۹۹۱ از ژله وارتون بندناف نوزاد انسان، سلول‌های شبیه به فیبروبلاست به دست آمد که قابلیت تکثیر زیادی داشتند. ۱۲ سال بعد، در سال ۲۰۰۳ از ماتریکس بندناف، جمعیت سلولی به‌نام سلول‌های مزانشیمی بندناف (UCM) جدا شد که توانایی تکثیر

نامحدود و تمایز به بافت‌های عصبی و گلیال را داشتند. مطالعات نشان داده‌اند که سلول‌های مزانشیمی بندناف قادرند در محیط کشت به سلول‌های عصبی، عضلانی، قلبی، غضروفی و استخوانی تمایز یابند. همچنین تزریق این سلول‌ها به مغز موش صحرایی باعث بهبود علائم پارکینسون موش‌ها و تمایز این سلول‌ها به سلول‌های عصبی شده است؛ بر این اساس، می‌توان این سلول‌ها را در زمره سلول‌های پرتوان به شمار آورد (۷۵).

کاربرد سلول‌های بنیادی در تولید اسپرم:

سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونیال در همه گونه‌ها وجود دارد که سبب حفظ اسپرماتوژنز در تمام طول عمر یک مرد می‌شوند (۷۶). سلول‌های بنیادی جنسی که سلول‌های «اسپرماتوگونیال» بنیادی خوانده می‌شوند، مدام در داخل «بیضه» در حال تولیدند؛ به گونه‌ای که روزانه بیش از صد میلیون از این سلول‌ها تولید شده و در واقع مبنای تولید اسپرم هستند (۴۰). اسپرم‌زایی فرآیندی پیچیده و بسیار سازمان یافته از تکثیر و تمایز سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی است که طی تقسیمات متوالی میتوز و میوز در نهایت به تعداد بی‌شماری اسپرماتوزوآ تمایز می‌یابند. به عبارت دیگر سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی برای شروع و تداوم اسپرم‌زایی لازم و ضروری هستند. سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی با توان خودنوزایی و تمایز به سلول‌های دختری، در تولید نسل بعد و انتقال مواد ژنتیکی به آن نقش مؤثری دارند، از این رو در بین سلول‌های بنیادی مختلف در بدن منحصر به فرد می‌باشند. خودنوزایی و تمایز سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی به یک ریزمحیط بی‌نظیر و اختصاصی به نام آشیانه نیاز دارد. سلول‌های سرتولی به عنوان تنها سلول‌های سوماتیک موجود در لوله‌های اسپرم‌ساز در واکنش مستقیم با سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی از طریق ترشح فاکتورهای رشد مانند فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از گلیال، فاکتور رشد فیبروبلاست، پروتئین ریخت‌شناسی استخوان، فاکتور سلول بنیادی و فاکتور رشد اپیدرمی سیگنال‌های پاراکرین در تشکیل آشیانه و تعادل بین تکثیر و تمایز سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی نقش مرکزی دارند. به تعادل بین دو فرآیند خودنوزایی و تمایز، منجر به حفظ باروری طبیعی در طول دوران تولید مثل فرد می‌شود و عدم تعادل، ازمهم‌ترین علل ناباروری مردان به‌شمار می‌رود. در میان تلاش‌هایی که جهت بهبود شرایط محیط کشت برای سلول‌های اسپرماتوگونی گونه‌های مختلف به کار رفته است، با توجه به نقش ویژه‌ای که سلول‌های سرتولی در حمایت این سلول‌ها در لوله‌های اسپرم‌ساز دارند، همکشتی با سلول‌های سرتولی به عنوان لایه مغذی بیشتر مورد توجه پژوهشگران می‌باشد. در بررسی‌های انجام شده در مورد تکثیر با استفاده از هم‌کشتی سلول‌های سرتولی اختلاف نظر وجود دارد. برخی مطالعات کشت کوتاه مدت سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی موش بالغ را بر روی سلول‌های سرتولی در جهت تکثیر، مفید گزارش کرده‌اند و همچنین در مورد مطالعات انسانی نیز هم‌کشتی با این سلول‌ها را توصیه کرده‌اند. در مقابل این تحقیقات، مطالعات دیگری وجود دارند که هم‌کشتی با سلول‌های سرتولی را باعث کاهش تزاید و پیشبرد تمایز سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی دانسته‌اند. همچنین در بین گزارشات بسیاری که نگهداری و تکثیر سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی در محیط کشت را به دنبال هم‌کشتی با یک لایه تغذیه کننده مؤثر دانسته‌اند، مطالعه‌ای در مورد بررسی بیان ژن‌های درگیر در زمان تکثیر و یا تمایز سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی در هم‌کشتی با سلول سرتولی انجام نشده است (۷۷). از ۱۵٪ زوجینی که مشکل ناباروری دارند، تقریباً نیمی از آنها برخی درجات فاکتورهای مردانه ناباروری را داشته که در این بین درمان‌های متداول فایده‌ای ندارد (۷۸). به دلیل تغییر الگوی زندگی خصوصاً در غرب، میزان متوسط اسپرم تولیدی در مردان به مرور از ۱۲۰ میلیون به ۵۰ تا ۶۰ میلیون کاهش یافته که این مسأله به شیوع فزاینده ناباروری در مردان منجر شده است. البته با توجه به محدودیت‌های دسترسی به سیستم تولید اسپرم در بدن بسیاری از فاکتورهای مؤثر در این پدیده ناشناخته مانده است؛ به گونه‌ای که برخی معتقدند حتی لمس کردن برخی پلاستیک‌ها و مواد پلاستیکی باعث ناباروری می‌شود. با تولید اسپرم در آزمایشگاه انجام مطالعات سم‌شناسی و شناسایی مواد و پدیده‌های مؤثر در افت

تولید اسپرم در بدن تسهیل می‌شود (۴۰). یکی از موارد ضروری در درمان ناباروری مردان، شناخت صحیح اسپرماتوژنزیس در سطح سلول‌های ژرم می‌باشد. همه سلول‌های مشتق شده از سلول‌های بنیادی رویانی از جمله سلول‌های ژرم مردانه می‌توانند به وسیله مارکرهای خاص شناسایی شوند. رویکرد دیگر، دنبال نمودن سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونیال در محیط آزمایشگاهی و ساخت سلول اسپرماتوزئید است (۷۸). در چند دهه گذشته یک برنامه قابل توجه در گرفتن سلول‌های ژرم سل مردانه از سلول‌های بنیادی پرتوان مطرح شده است (۷۹، ۸۰). مطالعات یک مدل تجربی قابل توجه برای بررسی مکانسیم مولکولی تکامل سلول‌های ژرم مردانه و راهکارهای برای تولید سلول‌های ژرم سل هاپلوئید برای درمان ناباروری مردانه را ایجاد نموده‌اند. اسپرماتوزنز یک فرآیند پیچیده است که به وسیله بازسازی سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونیال (SSC) و تمایز به سلول‌های اسپرماتوزای هاپلوئید انجام می‌شود. سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونیال در بیضه بزرگسال بوده، تولید اسپرم در کل زندگی مردان را ابقا نموده (۸۱) و از سلول‌های ژرم بدوی کمتر تمایز یافته منشأ گرفته که در طی مرحله رویانی به ستیغ گنادی مهاجرت می‌کنند (۸۲). این سلول‌ها در نزدیکی غشاء پایه‌ای سلول‌های سمینی‌فر بوده و شاخص‌های ویژه‌ای برای شناسایی و ایزوله دارند. این سلول‌ها در بررسی‌های آزمایشگاهی به دلیل توانایی برای تمایز به گامت انسانی در ناباروری مردان کاربرد دارند، اما هنوز هم چالش‌های زیادی در زمینه پروتکل‌های آماده‌سازی، جداسازی، شناسایی صحیح قبل از اجرا در کلینیک دارند (۸۳). هوبنر و همکاران (۲۰۰۳) در محیط آزمایشگاهی، ایجاد موفقیت‌آمیز گامت از سلول‌های بنیادی رویانی (ESCs) در موش را گزارش کردند (۸۴). بعد از آن مطالعات مختلفی با ESCs موش توانایی تولید اسپرماتوزای عملکردی (۸۶، ۸۵) و توانمند برای افزایش رشد فرزندان زنده بعد از تزریق داخل سیتوپلاسمی (۸۵) را نشان دادند. همچنین تمایز سلول‌های بنیادی ژرم از ESCs انسانی نشان داده شده است (۹۱-۸۷). به طور مشابه‌ای مطالعات ESCs توانایی تبدیل به سلول‌های مراحل مختلف اسپرماتوزیس از قبیل اسپرماتید گرد که توانایی باروری اووسیت‌ها در پستانداران سطح عالی ندارند را گزارش نمودند (۷۹، ۹۲). با این‌که این سلول‌ها در درمان بیماران نابارور کاربرد دارند، اما جدایی این سلول‌ها می‌تواند سبب تخریب رویان انسانی شود. در طی تکامل بیولوژی سلول‌های بنیادی، سلول‌های القاء شده بنیادی پرتوان (ipscs) در موش (۸۰، ۹۳، ۹۴) و در انسان با توانایی تمایز به سلول‌های ژرم سل مرد شناخته شده‌اند (۹۵، ۹۶). این نوع سلول‌های بنیادی در موش، توانایی شکل‌دهی اسپرماتوزای عملکردی (۹۷، ۹۸) و بارور نمودن اووسیت بعد از تزریق سیتوپلاسمی و تولید فرزند زنده بعد از انتقال رویان را داشته‌اند (۹۸). اما تاکنون گامت‌های مردان از ipscs انسانی تولید نشده است. دو رویکرد احتمالی در تولید سلول‌های ژرم مردانه از سلول‌های پرتوان بنیادی شامل تمایز به تولیدات سلولی هاپلوئید در محیط آزمایشگاهی (۹۵، ۹۶) و یا تمایز در آزمایشگاه و انتقال به خارج (۸۰، ۹۹) وجود دارد، اما محدودیت استفاده از این سلول‌ها در درمان ناباروری ناشی از ترس از آسیب محیطی بیضه است که در نتیجه این آسیب پیوند سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونیا امکان‌پذیر نبوده و در بارور نمودن بیمار بی‌فایده است (۱۰۰). در مطالعه یانگ و همکاران (۲۰۱۲) گزارش شد که اگرچه ipscs می‌توانند سلول‌های سمینی‌فر را بازسازی نموده و در لایه قاعده‌ای ساکن شوند، ولی تمایز بیشتری در سلول‌های سمینی‌فر شناسایی نشده است (۹۳). در کشور آلمان یک اسپرم اولیه یا موجودی شبیه اسپرم ساخته شده که نیازمند بررسی‌های بیشتر است تا در سال‌های آینده بتوان اسپرم بهینه را تهیه نمود. پزشکان از هرجا که راحت‌تر بتوانند سلول جدا کنند، سلول بر می‌دارند. البته اکنون بیشتر از سلول‌های بنیادی مغز استخوان استفاده می‌شود تا بتوانند سلول‌های پایه را بگیرند (۱۰۱). محققین دپارتمان بیولوژی سلول‌های بنیادی دانشگاه نیوکسل انگلستان که برای نخستین بار موفق به تولید اسپرم نابالغ از سلول‌های بنیادی مغز استخوان انسان شده بودند، موفق شدند نه تنها از سلول‌های مغز استخوان مردانه، که از سلول‌های مغز استخوان زنانه نیز اسپرم به

دست آورند. چیزی که از آن تحت عنوان «کپی مردانه از زن‌ها» تعبیر می‌شود. در این زمینه نگرانی‌هایی از سوی برخی که معتقدند با امکان تبدیل مغز استخوان زنانه به اسپرم، نقش مردان در فرآیند باروری منتفی می‌شود، ایجاد شده است. تولید اسپرم از مغز استخوان زنان مانند شبیه‌سازی (کلونینگ) است، اگر تقسیم سلولی در سلول بنیادی صورت گرفته و اسپرم تولید شود، نوترکیبی جدیدی در سلول‌های جنسی صورت می‌گیرد؛ به گونه‌ای که اگر آن را به روشی مشابه آنچه در باروری مصنوعی صورت می‌گیرد تزریق کرد، موجودی که در تخمک به وجود می‌آید با وجود حفظ مواد ژنتیکی آن دارای نوترکیبی جدیدی است. هدف عمده این تحقیقات، کمک به درمان ناباروری و توسعه تحقیقات سلولی است. موجود کلون شده ۱۰۰٪ شبیه به مادر خود نیست، اما در این روش تلفیقی از کلونینگ و باروری طبیعی وجود داشته و اپی‌ژنتیک در این بین نقش ویژه‌ای را ایفا می‌کند. در واقع اگر در آینده بتوان کروموزوم y را در داخل این سلول‌ها برد، می‌توان آن را به سمت سلول مذکر برد و در واقع کپی مردانه از زنان درست کرد (۴۰). شواهد پژوهشی نشان داده سلول‌های بالغ مانند سلول‌های پوستی را می‌توان برای تبدیل آنها به یک حالت ابتدایی‌تر و سپس یک گونه متفاوت سلولی القاء کرد. برای مشاهده امکان تولید سلول‌های اسپرم، دانشمندان به پرورش سلول‌های بنیادی از نمونه‌های پوستی پرداخته و دریافتند که می‌توان سلول‌های حیاتی از جمله سلول‌های اسپرم اولیه را تولید کرد. محققان موفق شده‌اند از سلول‌های پوستی مردان نابارور، سلول‌های اسپرم بسازند. دانشمندان دانشگاه پیتسبورگ در آمریکا در سال ۲۰۱۲ نشان دادند که تولید پیش سازهای سلول اسپرم از سلول‌های بنیادی پرتوان القایی انسانی امکان‌پذیر است و به این ترتیب احتمال باروری مردان را افزایش دادند. با این حال آنها تحقیقاتی بر روی سلول‌های پوستی بالغ از مردانی که به طور ژنتیکی نابارور بودند انجام ندادند؛ حتی امید است که سلول‌های بنیادی گرفته شده از پوست به سلول‌های نطفه که مستقیماً با بافت بیضه در مردان ارتباط دارد، پیوند زده شود (۱۰۲). دانشمندان در ژاپن اعلام کردند که برای اولین بار موفق شده‌اند از سلول‌های بنیادی رویانی موش سلول‌های اسپرم بسازند و این پیشرفت ممکن است روزی به درمان ناباروری در انسان‌ها کمک کند. در مطالعات این دانشمندان اسپرم‌های تولید شده برای بارور کردن تخمک‌ها مورد استفاده قرار گرفتند و توانستند بچه موش‌های سالمی ایجاد کنند که به موش‌های بالغ نر و ماده بارور بدل شدند (۱۰۳). در مطالعات جدید تزریق سلول‌های مغز استخوان در لوله‌های سمینی‌فر یا فضای بینابینی نه تنها قادر به تمایز به سلول‌های ژرم بوده (اسپرماتوگونیا و اسپرماتوسیت)، بلکه به سلول‌های سرتولی و لایدیگ تمایز یافته‌اند که یافته بی‌نظیری برای درمان ناباروری مردان است. اما برای استفاده از سلول‌های مغز استخوان در جهت تولید سلول‌های ژرم، این سلول‌ها باید جدا شده و در محیطی مشابه با آنچه در بیضه‌ها وجود دارد کشت داده شوند (۱۰۴). سلول‌های بنیادی جنسی به دلیل ویژگی‌های خاص خود، مواد ژنتیکی را از نسلی به نسل دیگر منتقل می‌کنند و به دلیل همین وظیفه مهم، بدن آنها را به گونه‌ای ساخته که مواد ژنتیکی‌شان دست نخورده باقی بماند؛ بدین معنی که سلول‌های بنیادی جنسی حتی در مردان ۹۵ ساله نیز امکان لقاح و باروری دارد؛ چرا که بدن از مواد ژنتیکی این سلول‌ها در طول زندگی فرد حفاظت می‌کند، اما این حفاظت در دیگر بافت‌های بدن وجود ندارد. بدین ترتیب اگر بتوان از سلول‌های جنسی یک فرد بافت تولید کرد، بافت ساخته شده از سن خود فرد جوان‌تر است؛ چراکه مواد ژنتیکی آن دست نخورده و تازه‌تر است. باید دانست که اگر سلول‌های بنیادی فرد بیماری را در آزمایشگاه جداسازی و تکثیر کرده و ژن آن را به یک ژن طبیعی برگردانند، می‌توان سلول را دوباره به بیضه انتقال داد تا توسط همان فرد سلول‌هایی تولید شود که فاقد آن بیماری است. با این روش می‌توان جلوی انتقال یک بیماری را از نسلی به نسل دیگر گرفت. این تحقیق با موفقیت برروی موش تست شده است (۴۰).

کاربرد سلول‌های بنیادی در حفظ باروری مردان:

روش‌های حفظ باروری در بیماران سرطانی و افرادی نظیر کارگران و کارکنان کارخانه‌هایی که در مواجهۀ طولانی مدت با مواد گونادوتوکسیک قرار دارند مانند

کارگران نساجی یا کارمندان سیستم‌های بهداشتی درمانی و نیز نظامیانی که در مواجهه با ترکیبات پرتوزا یا سمی قرار دارند، استفاده می‌شود. درمان‌های ضد سرطان، اعم از پرتودرمانی یا شیمی درمانی، با هدف قرار دادن سلول‌های پرتکثیر، اثر درمانی خود را بر سلول‌های سرطانی اعمال می‌کنند. در این میان، سلول‌های زایا نیز با توجه به نرخ بالای تکثیر، دچار آسیب و مرگ سلولی می‌شوند که در نهایت، با کاهش توان باروری یا ناباروری کامل بیماران همراه است. میزان آسیب در سلول‌های زایا به شدت درمان‌های ضد سرطان بستگی دارد و این امکان وجود دارد که به علت از دست رفتن سلول‌های پیش‌ساز، فرد دچار الیگوسپرمی شود (۱۰۵). برای پیشگیری از بروز ناباروری ناشی از شیمی درمانی دو راه وجود دارد. یکی جداسازی و فریز کردن سلول‌های بنیادی قبل از درمان و در نهایت انتقال دوباره آنها به بیضه پس از درمان سرطان و دیگری بررسی نحوه مقاوم‌سازی سلول‌ها در آزمایشگاه و رسیدن به شیوه‌ای برای افزایش موقت مقاومت آنها به مواد سمی و شیمیایی تا در طول دوره شیمی درمانی، ماده شیمیایی باعث نابودی سلول بنیادی جنسی فرد نشود (۴۰)؛ به‌گونه‌ای که روش‌های حفظ باروری را می‌توان با توجه به طیف سنی بیماران به دو دسته تقسیم کرد: برخی از روش‌های حفظ باروری در مردان بالغ انجام می‌گیرد که این روش‌ها، به علت دسترسی به بافت فعال بیضه و نیز اسپرماتوزوآی مؤثر، روش‌هایی به نسبت در دسترس هستند و در حال حاضر امکان حفظ باروری را فراهم می‌آورند. اما از سویی دیگر، روش‌های حفظ باروری کودکان تحت شیمی درمانی با مشکل فقدان سلول‌های اسپرماتوگونی فعال و نبود اسپرم مؤثر مواجه است، در نتیجه فراهم کردن شرایط برای بلوغ و تمایز این سلول‌ها به سمت اسپرماتوسیت و اسپرماتوزوآ بخشی مهم از این فرآیند است. وجود مشکلات فوق باعث محدودیت روش های حفظ باروری برای کودکان شده است. بنابراین، سیاست حفظ باروری آنها بر یکی از سه محور زیر بنا خواهد شد: ۱. جداسازی و انجماد بافت بیضه و تلاش برای پیوند مجدد بافت پس از بهبودی، ۲. جداسازی سلول‌های اسپرماتوگونی و تلاش برای کشت و بلوغ آنها در شیشه یا میزبان ثانویه با هدف نهایی تولید اسپرم برای IVF و ۳. جداسازی سلول‌های اسپرماتوگونی از بافت منجمد شده بیضه پس از درمان سرطان و پالایش آن از سلول‌های سرطانی و پیوند مجدد آنها پس از بهبودی (۱۰۵).

تولید اسپرم در محیط آزمایشگاهی از سلول‌های زایای استخراج شده:

فراهم ساختن شرایط مناسب در محیط آزمایشگاهی شیشه برای تمایز سلول‌های زایای بدوی (PGC) یا اسپرماتوگونی‌ها به سمت اسپرماتوسیت‌ها و در نهایت به شبیه‌سازی محیط بیضه خواهد انجامید که در صورت تحقق این امر گام بسیار بزرگی در روند حفظ باروری افراد و درمان ناباروری برداشته خواهد شد، اگرچه تا رسیدن به این هدف راهی بسیار طولانی پیشرو است. برای تحقق این امر، مهم‌ترین اقدامات، بررسی فاکتورهای رشد ترشح شده در بافت بیضه و سلول‌های سرتولی، شناسایی ژن‌های مؤثر بر باروری و تمایز اسپرماتوگونی‌ها و نیز انتخاب سلول‌های تغذیه کننده مناسب است (۷۷). افزون بر آن، استفاده از محیط‌های مناسب تمایز در آزمایشگاه در فاصله زمانی بین درمان های ضد سرطان و بازگرداندن سلول‌های زایا، زمان کافی برای تمایز سلول‌های نابالغ استخراج شده را مهیا می‌سازد و این محیط‌ها امکانی فراهم می‌آورد تا سلول‌ها مراحل تقسیم و تمایز خود را در محیط آزمایشگاهی به دست آورند و پس از آن عمل پیوند انجام گیرد. آنچه در نهایت پس از پیوند بافت بیضه بسیار مهم به نظر می‌رسد، سلامت و احیای چرخه اسپرماتوژنز و نیز حفظ محتوای ژنتیکی اسپرم‌های تولید شده است (۱۰۶، ۱۰۷). از سوی دیگر، در صورت موفقیت نهایی حفظ اسپرماتوژنز انسان از طریق پیوند زنوگرافت می‌توان برای حفظ باروری مبتلایان به سرطان، از تلقیح اسپرم به دست آمده از آن استفاده کرد و نیاز به پیوند اتوگرافت بافت در فرد دهنده را مرتفع ساخت (۱۰۸).

پیوند سلول‌های بنیادی اسپرماتوگنیا (SSC) منجمد شده:

در این روش سلول‌ها پس از جداسازی از نمونهٔ بیضه، منجمد می‌شوند و SSC تا پایان درمان سرطان،

نگهداری و سپس ذوب می‌گردند و به بافت بیضه فرد بازگردانده می‌شوند. سابقه پیوند موفق سلول‌های SSC به برینستر ۱۹۹۴ برمی‌گردد که یک پیوند سلول‌های SSC موش، باروری را به موش نابارور دیگر برگرداند و موجب تولید اسپرماتوزوآی فعال و مؤثر شد (۱۱۰، ۱۰۹). با وجود انجام پیوندهای متعدد، سلول‌های زایا در گونه‌های جانوری مختلف از جمله رت، همستر، بز، گاو و خوک و میمون، زانوگرافت بین دو گونه، زمانی به تولید اسپرم خواهد انجامید که این پیوند بین دو گونهٔ نزدیک به هم باشد؛ به‌طوری‌که این امر بین رت با موش و بز با خوک اتفاق افتاده است. در غیر این‌صورت، در قسمتی از میوز، روند اسپرماتوژنز مختل خواهد شد (۱۱۱). به نظر می‌رسد اختلال فوق ناشی از عدم تطابق فعالیت سلول های سرتولی بیضه میزبان با سلول‌های زایای پیوندی باشد؛ زیرا همزمان سلول‌های سرتولی با سلول‌های زایا توانایی تولید اسپرم را به دنبال خواهد داشت.

پیوند سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی:

آنچه به ذهن می‌رسد این است که آیا بعد از به نتیجه رسیدن فعالیت‌های پژوهشی حیوانی، پیوند سلول‌های زایا در انسان قابل انجام است یا به عبارت دیگر، آیا از این روند می‌توان به عنوان روشی برای حفظ باروری افراد مبتلا به سرطان، به ویژه کودکان مبتلا که سلول‌های زایای آنها پیش از طی مراحل بلوغ از بین رفته است، استفاده کرد یا خیر. افزون بر آن، پرسش‌های بسیاری در مورد ایمنی و سلامت این پیوند، به ویژه در حفظ محتوی ژنی آنها مطرح است که باید به آنها پاسخ داده شود. در یکی از مطالعات انجام شده، در ۱۱ نفر از مردان مبتلا به سرطان، نمونه‌گیری و نمونه‌های بافتی بیضه منجمد شد و سپس در مرحله پس از درمان با بازگرداندن بافت بیضه، ۵ نفر از آنها اسپرماتوژنز فعال خود را بازیافتند (۱۱۲). برای حفظ باروری مراحل اصلی پیوند سلول‌های SSC کودکان مبتلا به سرطان شامل: نمونه‌گیری و انجماد رفع آلودگی‌ها و بدخیمی‌ها، نمونه‌ها، جداسازی سلول‌های SSC و در نهایت پیوند سلول‌های اسپرماتوگونی به فرد می‌باشد. تقریباً از هر ۱۰۴ سلول بیضه، ۲ سلول آن اسپرماتوگونی هستند (۱۱۱)، در نتیجه در یک بیضه موش (S.S.C) بنیادی نابالغ حدود ۱۰۰ تا ۲۰۰ سلول بنیادی اسپرماتوگونی وجود دارد. به دست آوردن تعداد مناسب از سلول‌های SSC ، تخلیص یا بالا بردن غلظت آنها در سوسپانسیون پیوند یکی از عوامل مؤثر در میزان موفقیت پیوند است (۱۱۳).

انجماد بافت بیضه و پیوند مجدد:

حفظ بافت بیضه، از طریق انجماد نمونه‌ها قبل از انجام شیمی درمانی و پیوند مجدد آنها پس از درمان، یک روش درمانی پیشنهادی برای حفظ باروری در کودکان تحت درمان سرطان است. هدف نهایی در این روش، بلوغ سلول‌های تمایز نیافتهٔ اسپرماتوگونی در بدن فرد بیمار، به کمک سلول‌های سرتولی است. تلاش‌های بسیاری برای حفظ باروری در پستانداران از طریق پیوند بافت بیضه صورت گرفته است؛ بدین‌صورت که بافت بیضهٔ نابالغ به صورت ارتوتوپیک در داخل بافت بیضهٔ میزبان و اکتوپیک، در سایر نقاط بدن میزبان سرکوب ایمنی شده مانند پوست پیوند زده و وضعیت تولیدمثلی آنها پیگیری شده است. اسچالت و همکاران (۲۰۰۲) موفق شدند به دنبال پیوند بافت بیضه در موش همستر، به تولید نسل جدید از آنها دست یابند (۱۱۴). هنرآموز و همکاران (۲۰۰۴) موفق شدند با پیوند اکتوپیک سلول‌های بیضهٔ میمون رزوس به موش سرکوب ایمنی شده، اسپرم میمون را در بدن موش ردیابی کنند (۱۱۵). یکی از پژوهش‌های مهم انسانی در این زمینه توسط سچلات و همکاران (۲۰۰۶) به صورت زنوگرافت اکتوپیک انسان به موش و در زیر پوست انجام شد که علی‌رغم حفظ بقای سلول‌های زایا، تقسیمات میوزی و اسپرماتوژنز را به همراه نداشت. این روش هنوز در مورد بافت‌های انسانی رویکرد موفقیت‌آمیزی نداشته است، با این وجود در یک مطالعه، پیوند بافت‌های بیضه بالغ در ۱۴ نفر از ۳۱ فرد درمان شده پس از سرطان، به تولید سلول‌های بیضه و توبول‌های منی‌ساز منجر شد. البته پیشبرد فرآیند بلوغ این سلول‌های نابالغ همچنان نیازمند انجام پژوهش‌های بیشتر است (۱۱۶). در میان تکنیک‌های مختلف انجماد، حفظ سلول‌های اسپرماتوگونی، سرتولی و بستر بافتی بیضهٔ نابالغ به وسیلهٔ انجماد در دی متیل سولفوکسید (DMSO) موفقیت‌آمیزتر بوده است (۱۱۷). از سوی دیگر، وینس و

همکاران (۲۰۰۷) موفق شدند بافت بیضهٔ منجمد شدهٔ انسانی را پس از ذوب کردن به بیضهٔ موش پیوند بزنند و سلول‌های اسپرماتوگونی را زنده نگهدارند (۱۱۸). یکی از موفقیت‌های این پژوهش، تأیید سلامت سلول‌ها پس از انجماد و ذوب بود که قابلیت استفاده از پیوند بافت در کودکان مبتلا به سرطان را پس از انجماد طولانی مدت، نوید می‌داد. در مطالعاتی که روی پریمات‌ها انجام شده است، نشان می‌دهد که پیوندهای ارتوتوپیک از پیوندهای اکتوپیک مؤثرترند؛ چراکه چرخهٔ اسپرماتوژنز در پیوندهای ارتوتوپیک در بافت بیضه تکمیل می‌شود، اما در حالت اکتوپیک، سلول‌های اسپرماتوگونی در چرخه‌های میوز و اسپرمیوژنز گیر میافتند (۱۱۹).

چالش‌های استفاده از سلول‌های بنیادی

سلول‌های بنیادی جنینی- سلول‌های بنیادی پرتوان، پتانسیل درمانی زیادی دارند، اما چالش‌های تکنیکی دشواری در مواجه با آن وجود دارد. اول اینکه محققان باید به این دانش دست یابند که چگونگی تبدیل شدن آنها به همه انواع مختلف سلول‌های بدن را کنترل کنند. دوم اینکه سلول‌هایی که اکنون برای تحقیقات موجودند، احتمالاً توسط سیستم ایمنی بیمار رد شوند. یکی دیگر از توجهات جدی این است که ایده استفاده از سلول‌های بنیادی جنینی انسان یا استفاده از بافت‌های جنینی در زمینه اخلاقی بسیار بحث برانگیز است و مخالفان زیادی دارد. پس ناگزیر در حال حاضر باید از سلول‌های بنیادی بالغ یا سلول‌های بنیادی خون بندناف برای سلول درمانی استفاده کرد (۱۲۰). اجرای تحقیقات بر روی انسان با دو مسئله مهم گرفتن نمونه (بیوپسی) و کشت سلول‌های بنیادی در محیط کشت مواجه است. تأکید بر اینکه در گرفتن نمونه از انسان نباید آسیبی به فرد وارد شود؛ این امر محدودیتی برای داشتن تعداد سلول‌های بنیادی کافی در محیط‌های کشت ایجاد می‌کند، علاوه بر این پس از گرفتن سلول‌ها باید آنها را منجمد و پس از مدتی به فرد بیمار پیوند زد که لازم است روش‌های انجماد بهبود داده شود (۱۲۱). تاکنون شواهد اندکی مبنی بر تغییر فاز سلول‌های بنیادی بالغ و انعطاف‌پذیری آنها برای پرداختن به تمام بیماری‌های و اختلالات توسط محققان وجود داشته است. در حال حاضر محدودیت‌هایی در استفاده از سلول‌های بنیادی بالغ وجود دارد. اگرچه انواع مختلفی از سلول‌های بنیادی چندتوان شناسایی شده است، اما سلول‌های بنیادی بالغ که بتوانند همه انواع سلول و بافت‌ها را ایجاد کنند یافت نشده‌اند. سلول‌های بنیادی بالغ اغلب در اقلیت هستند و به سختی می‌توان آنها را جداسازی و تخلیص کرد. سلول‌های بنیادی بالغ ممکن است حاوی جهش‌های DNA ناشی از تابش خورشید، مواد سمی و خطا در ساخت نسخه‌های بیشتر DNA در طول دوره حیاتشان باشند. این ضعف‌ها ممکن است سودمندی سلول‌های بنیادی بالغ را محدود کند. باید دانست صرف این که سلول‌های بنیادی چون از بدن خود فرد گرفته می‌شوند، به معنی سالم بودن آنها نیست. هر کار درمانی می‌تواند عوارضی را به همراه داشته باشد. هرچند ممکن است سیستم ایمنی فرد علیه سلول‌های خودِ فرد واکنشی را نشان ندهد، ولی جداسازی، کشت و آماده‌سازی سلول‌ها برای پیوند می‌تواند تغییراتی را در سلول‌ها ایجاد نماید که بعد از تزریق می‌تواند برای بیمار با عوارضی همراه باشد. به محض این‌که سلول‌ها از بدن فرد خارج می‌شوند، کارهای مختلفی روی آن‌ها انجام می‌شود تا برای پیوند مجدد آماده شوند. اگر سلول‌ها در محیط کشت تکثیر یابند، ممکن است با گذشت زمان سازوکارهای کنترل تقسیم و یا توانایی تمایز به سلول خاص را از دست بدهند. سلول‌ها ممکن است با باکتری‌ها، ویروس‌ها و عوامل بیماری‌زا موجود در محیط کشت آلوده شوند. روند جداسازی سلول و تزریق مجدد آن همواره می‌تواند خطر ایجاد عفونت در بافت هدف را به همراه داشته باشد (۱۲۰). قابل ذکر است که در سال ۲۰۰۸ فیوجیتا و همکاران نشان دادند که وجود سلول‌های سرطانی در بافت بیضه مانع تکمیل روند اسپرماتوژنز نرمال در بافت پیوندی می‌شود (۱۰۸). همچنین، سلامت فرزندان ناشی از اسپرماتوژنز با روش پیوند نیاز به تأیید دارند تا استفادهٔ درمانی از پیوند سلول‌های اسپرماتوگونی در نهایت تضمین ایمنی و سلامت داشته باشد. برای تأمین امنیت کامل پیوند، بررسی عوارض مداخلهٔ جراحی در بیضه نیز نکته‌ای قابل تأمل است که باید به آن پرداخته شود و با توجه به

عوارض آن، زمان بهینه برای اخذ نمونه و نیز پیوند پس از درمان سرطان تعیین گردد. از سویی در هنگام نمونه‌برداری و تصمیم برای حفظ باروری کودکان مبتلا به سرطان، تصمیم گیرندهٔ نهایی والدین این کودکان هستند، در حالی که نظر کودک، به عنوان فردِ اصلی تصمیم گیرنده در روند باروری، محاسبه نمی‌شود و این می‌تواند ملاحظات اخلاقی داشته باشد (۱۲۲). در حال حاضر مشکل این تحقیقات، نگهداری طولانی مدت اسپرم فریز شده است؛ یعنی وقتی اسپرم‌ها در دمای منفی ۱۹۶ درجه فریز می‌شوند، زمانی که آن‌ها برگردانده می‌شوند، تنها ۶۰-۵۰٪ اسپرم‌ها قابل استفاده هستند. در حالی که تلاش بر این است که تا ۹۰٪ آنها زنده و قابل پیوند باشند (۱۲۳). تولید اسپرم از سلول‌های بنیادی به دلیل تفاوت تعداد کروموزوم‌های سلول‌های جنسی با سایر سلول‌ها کار مشکلی است. با این حال دانشمندان پیش‌تر سلول‌های زایشی را از سلول‌های بنیادی به دست آورده بودند، اما عاملیت این سلول‌های زایشی اثبات نشده بود. تاکنون دانشمندان مشکلات متعددی در تکمیل موفقیت‌آمیز تمام مراحل میوز داشته‌اند. این موضوع یک سد بزرگ برای تولید اسپرم‌های دارای عملکرد و تولید سلول تخم در آزمایشگاه بوده است (۱۲۴)، در نهایت جهت کاهش اثرات اپی‌ژنتیک در طول زمان لازم است پژوهش‌هایی در جهت یافتن راه حل‌هایی برای از بین بردن جهش‌های اپی‌ژنتیک انجام شود (۱۲۵).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج تحقیقات انجام شده در پستانداران غیر انسانی و نیز با پیشرفت‌های اخیر در زمینه کشت و جداسازی سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی در انسان، به نظر می‌رسد در صورت اطمینان از سلامت زیستی و اخلاقی روش‌های فوق، استفاده برای درمان ناباروری، کشت و جداسازی این سلول‌ها پیش از درمان سرطان و پیوند آنها پس از درمان در افراد مبتلا می‌تواند درمان مناسبی برای باروری باشد. از آنجایی که حفظ باروری بدین روش این مزیت را به همراه دارد که باروری حاصله، فارغ از روش‌های مصنوعی تولید مثلی است و فرد به روند عادی تولید مثلی برمی‌گردد، در صورت بالا بودن درصد موفقیت آن، می‌تواند در مورد مردان بالغ نیز به کار برده شود تا نیازی به روش‌های لقاح مصنوعی در آزمایشگاه نباشد. در مرحله اول با توجه به فراهم بودن امکان ذخیره سلول‌های بنیادی اسپرم‌ساز انسانی، والدین پسر بچه‌های مبتلا به سرطان به محض تشخیص باید در این مورد آگاه شوند. همزمان با فعالیت مراکز ذخیره‌سازی سلول‌های بنیادی اسپرم‌ساز انسانی در کشورهایی همچون هلند، بلژیک، سوئد، فنلاند و آمریکا، این مهم در ایران میسر شده است. در مرحله بعدی، زمانی که درمان کامل سرطان انجام شد و ناباروری ناشی از عارضه درمان تأیید شد، پیوند سلول‌های بنیادی تکثیر شده انجام می‌شود. در حال حاضر اگرچه ایمنی استفاده درمانی از این سلول‌ها در مدل‌های حیوانی تأیید شده است، اما پژوهشگران بالینی مشغول انجام پروژه‌هایی در تأیید ایمنی کامل پیوند این سلول‌ها به انسان هستند. سلول‌های بنیادی پرتوان راهی برای درمان آزواسپرمی هستند، اما نگرانی‌های اخلاقی در مورد ESCs وجود دارد. توسعه کلینیک‌ها در این زمینه در جهت طولانی نمودن پنجره باروری برای زنان جهت برخورد با نیازهای جمعیت آینده با تأخیر در باروری بسیار مهم می‌باشد؛ چراکه با افزایش سن و افزایش مداخلات پزشکی، فولیکول‌های تخمدانی کاهش پیدا می‌کند. در آینده پروتکل‌های جداسازی و کشت GSCs باید بهینه شود. همچنین این مدل می‌تواند به محققان یک فرصت منحصر به فرد را برای بررسی علائم مولکولی هدایت‌گر این فرآیند ارائه کرده تا دانشمندان بتوانند به درک بهتری در مورد چگونگی تولید اسپرم برسند. امید است در آینده بتوان سلول‌های تخمک و اسپرم را برای افراد نابارور ساخت، این روش هم‌چنین به دانشمندان برای درمان برخی از بیماری‌های مرتبط با سن نیز کمک می‌کند که علت آن تغییرات اپی‌ژنتیک (ورای ژنتیک یا آثار محیطی) است.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از تمام افرادی که ما را در انجام این مطالعه یاری کردند، تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1. Ghasemzadeh H, Kalaee M, Drostkar K, Khaki A. Stem cells and their application in reproduction, Fifteenth Iranian Veterinary Congress, Tehran, Iran; 2008.
2. Beheshti A. Stem cells are body builders. J Biom Eng 2011; 113:14. (Persian).
3. Nazarzade M. Stem cell applications. Stem Cell. Availabel at: URL: http://stemcelldreammz.mihanblog.com; 2012.
4. Bendikson K. Making Human Eggs from Stem Cells. USC Fertility. Availabel at: URL: uscfertility.org/making-human-eggs-stem-cells/; 2012.
5. Female infertility: TCM and stem cell therapy. ReLife International Medical Centre. Availabel at: URL: relifemed.com/infertility/cutting-edge-and-promising-solutions-for-female; 2015.
6. New hopes to increase during the period of fertility of women. Danakhabar. Availabel at: URL: http://danakhabar.com/fa/news/1154618; 2013.
7. Piroze M, Valad Beigi T, Shahverdi A, Baharvand H. Evaluation of L-Carnitine effect on the testis tissue of mature male rat exposed with cadmium. Anatom Sci J 2008; 6(3-4):591. (Persian).
8. Unexpected progress about stem cells. Lahzeh Nama News Journal; 2016.
9. Weckstein L. Stem cells to expand female window of fertility. Reproductive Science Center of the Bay Area. Availabel at: URL: https://rscbayarea.com/blog/stem-cells-to-expand-female-window-of-fertility; 2012.
10. Beheshti A. The new step in the treatment of infertility, scientists with the first map of the human germ cell growth path. Clinical Medicine. Availabel at: URL: http://www.clinicalmedicine.ir/post-4930.aspx; 2012.
11. Andl T, Ahn K, Kairo A, Chu EY, Wine-Lee L, Reddy ST, et al. Epithelial Bmpr1a regulates differentiation and proliferation in postnatal hair follicles and is essential for tooth development. Development 2004; 131(10):2257-68.
12. Lin H, Spradling AC. Germline stem cell division and egg chamber development in transplanted. Drosophila germaria. Dev Biol 1993; 159(1):140-52.
13. Borum K. Oogenesis in the mouse. A study of the meiotic prophase. Exp Cell Res 1961; 24:495-507.
14. Faddy MJ, Jones EC, Edwards RG. An analytical model for ovarian follicle dynamics. J Exp Zool 1976; 197:173-85.
15. McLaren A. Meiosis and differentiation of mouse germ cells. Symp Soc Exp Biol 1984; 38:7-23.
16. Faddy MJ. Follicle dynamics during ovarian ageing. Mol Cell Endocrinol 2000; 163(1-2):43-8.
17. Faddy MJ, Telfer E, Gosden RG. The kinetics of pre-antral follicle development in ovaries of CBA/Ca mice during the first 14 weeks of life. Cell Tissue Kinet 1987; 20:551-60.
18. Richardson SJ, Senikas V, Nelson JF. Follicular depletion during the menopausal transition: evidence for accelerated loss and ultimate exhaustion. J Clin Endocrinol Metab 1987; 65(6):1231-7.
19. Johnson J, Canning J, Kaneko T, Pru JK, Tilly JL. Germline stem cells and follicular renewal in the postnatal mammalian ovary. Nature 2004; 428(6979):145-50.
20. Bukovsky A, Caudle MR, Svetlikova M, Upadhyaya NB. Origin of germ cells and formation of new primary follicles in adult human ovaries. Reprod Biol Endocrinol 2004; 2:20.
21. Lee HJ, Selesniemi K, Niikura Y, Niikura T, Klein R, Dombkowski DM, et al. Bone marrow transplantation generates immature oocytes and rescues long-term fertility in a preclinical mouse model of chemotherapy-induced premature ovarian failure. J Clin Oncol 2007; 25(22):3198-204.
22. Eggan K, Jurga S, Gosden R, Min IM, Wagers AJ. Ovulated oocytes in adult mice derive from non-circulating germ cells. Nature 2006; 441(7097):1109-14.
23. Virant-Klun I, Stimpfel M, Skutella T. Ovarian pluripotent/multipotent stem cells and in vitro oogenesis in mammals. Histol Histopathol 2011; 26(8):1071-82.
24. Zou K, Yuan Z, Yang Z, Luo H, Sun K, Zhou L, et al. Production of offspring from a germline stem cell line derived from neonatal ovaries. Nat Cell Biol 2009; 11(5):631-6.
25. White YA, Woods DC, Takai Y, Ishihara O, Seki H, Tilly JL. Oocyte formation by mitotically active germ cells purified from ovaries of reproductive-age women. Nat Med 2012; 18(3):413-21.
26. Eguizabal N, Montserrat R, Vassena N, Barragan M, Garreta E, Garcia-Quevedo L, et al. Complete meiosis fromhuman induced pluripotent stem cells. Stem Cells 2011; 29(8):1186-95.
27. Hayashi K, Ogushi S, Kurimoto K, Himamoto S, Ohta H, Saitou M. Offspring from oocytes derived from in vitro primordial germ cell-like cells in mice. Science 2012; 338(6109):971-5.
28. Evron A, Blumenfeld Z. Ovarian stem cells-the pros and cons. Clin Med Insights Reprod Health 2013; 20(7):43-7.
29. Toyooka Y, Tsunekawa N, Akasu R, Noce T. Embryonic stem cells can form germ cells in vitro. Proc Natl Acad Sci U S A 2003; 100(20):11457-62.
30. Geijsen N, Horoschak M, Kim K, Gribnau J, Eggan K, Daley GQ. Derivation of embryonic germ cells and male gametes from embryonic stem cells. Nature 2004; 427(6970):148-54.
31. Hubner K, Fuhrmann G, Christenson LK, Kehler J, Reinbold R, De La Fuente R, et al. Derivation of oocytes from mouse embryonic stem cells. Science 2003; 300(5623):1251-6.
32. Benson DA, Karsch-Mizrachi I, Lipman DJ, Ostell J, Wheeler DL. GenBank: update. Nucleic Acids Res 2004; 32:D23-6.

33. Dias Neto E, Correa RG, Verjovski-Almeida S, Briones MR, Nagai MA, da Silva W Jr, et al. Shotgun sequencing of the human transcriptome with ORF expressed sequence tags. Proc Natl Acad Sci U S A 2000; 97(7):3491-6.
34. Saitou M, Barton SC, Surani MA. A molecular programme for the specification of germ cell fate in mice. Nature 2002; 418(6895):293-300.
35. Su AI, Wiltshire T, Batalov S, Lapp H, Ching KA, Block D, et al. A gene atlas of the mouse and human protein-encoding transcriptomes. Proc Natl Acad Sci U S A 2004; 101(16):6062-7.
36. Yoshimizu T, Sugiyama N, De Felice M, Yeom YI, Ohbo K, Masuko K, et al. Germline-specific expression of the Oct-4/green fluorescent protein (GFP) transgene in mice. Dev Growth Differ 1999; 41(6):675-84.
37. Johnson J, Bagley J, Skaznik-Wikiel M, Lee HJ, Adams GB, Niikura Y, et al. Oocyte generation in adult mammalian ovaries by putative germ cells in bone marrow and peripheral blood. Cell 2005; 122(2):303-15.
38. Lee HJ, Selesniemi K, Niikura Y, Niikura T, Klein R, Dombkowski DM, et al. Bone marrow transplantation generates immature oocytes and rescues long-term fertility in a preclinical mouse model of chemotherapy-induced premature ovarian failure. J Clin Oncol 2007; 25(22):3198-204.
39. Eggan K, Jurga S, Gosden R, Min IM, Wagers AJ. Ovulated oocytes in adult mice derive from non-circulating germ cells. Nature 2006; 441(7097):1109-14.
40. Movahedi SH. Fertility of women through stem cells. New Veterinarians and Scientific News. Availabel at: URL: http://dr-movahedi.blogfa.com/post-465.aspx; 2016.
41. Donnez J, Dolmans MM, Demylle D, Jadoul P, Pirard C, Squifflet J, et al. A livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. Lancet 2004; 364(9443):1405-10.
42. Apperley JF, Reddy N. Mechanism and management of treatment-related gonadal failure in recipients of high dose chemoradiotherapy. Blood Rev 1995; 9(2):93-116.
43. Al-Hasani S, Diedrich K, van der Ven H, Reinecke A, Hartje M, Krebs D. Cryopreservation of human oocytes. Hum Reprod 1987; 2(8):695-700.
44. Carroll J, Wood MJ, Whittingham DG. Normal fertilization and development of frozen-thawed mouse oocytes: protective action of certain macromolecules. Biol Reprod 1993; 48(3):606-12.
45. Eroglu A, Toth TL, Toner M. Alterations of the cytoskeleton and polyploidy induced by cryopreservation of metaphase II mouse oocytes. Fertil Steril 1998; 69(5):944-57.
46. Gook DA, Osborn SM, Johnston WI. Cryopreservation of mouse and human oocytes using 1,2-propanediol and the configuration of the meiotic spindle. Hum Reprod 1993; 8(7):1101-9.
47. Porcu E, Fabbri R, Seracchioli R, Ciotti PM, Magrini O, Flamigni C. Birth of a healthy female after intracytoplasmic sperm injection of cryopreserved human oocytes. Fertil Steril 1997; 68(4):724-6.
48. Yoon TK, Chung HM, Lim JM, Han SY, Ko JJ, Cha KY. Pregnancy and delivery of healthy infants developed from vitrified oocytes in a stimulated in vitro fertilization-embryo transfer program. Fertil Steril 2000; 74(1):180-1.
49. Gosiengfiao Y. Progress, history and promise of ovarian cryopreservation and transplantation for pediatric cancer patients. Cancer Treat Res 2007; 138:130-4.
50. Deanesly R. Immature rat ovaries grafted after freezing and thawing. J Endocrinol 1954; 11(2):197-200.
51. Kim SS, Battaglia DE, Soules MR. The future of human ovarian cryopreservation and transplantation: fertility and beyond. Fertil Steril 2001; 75(6):1049-56.
52. Parrot D. The fertility of mice with orthotopic ovarian grafts derived from frozen tissue. J Reprod Fertil 1960; 1(3):230-41.
53. Gosden RG, Baird DT, Wade JC, Webb R. Restoration of fertility to oophorectomized sheep by ovarian autografts stored at -196 degrees C. Hum Reprod 1994; 9(4):597-603.
54. Oktay K, Karlikaya G. Ovarian function after transplantation of frozen, banked autologous ovarian tissue. N Engl J Med 2000; 342(25):1919.
55. Oktay K, Buyuk E, Veeck L, Zaninovic N, Xu K, Takeuchi T, et al. Embryo development after heterotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. Lancet 2004; 363(9412):837-40.
56. Lee DM, Yeoman RR, Battaglia DE, Stouffer RL, Zelinski-Wooten MB, Fanton JW, et al. Live birth after ovarian tissue transplant. Nature 2004; 428(6979):137-8.
57. Radford JA, Lieberman BA, Brison DR, Smith AR, Critchlow JD, Russell SA, et al. Orthotopic reimplantation of cryopreserved ovarian cortical strips after high-dose chemotherapy for Hodgkin's lymphoma. Lancet 2001; 357(9263):1172-5.
58. Kim SS, Battaglia DE, Soules MR. The future of human ovarian cryopreservation and transplantation: fertility and beyond. Fertil Steril 2001; 75(6):1049-56.
59. Shaw JM, Bowles J, Koopman P, Wood EC, Trounson AO. Fresh and cryopreserved ovarian tissue samples from donors with lymphoma transmit the cancer to graft recipients. Hum Reprod 1996; 11(8):1668-73.
60. Newton H, Aubard Y, Rutherford A, Sharma V, Gosden R. Low temperature storage and grafting of human ovarian tissue. Hum Reprod 1996; 11(7):1487-91.
61. Silber SJ, Lenahan KM, Levine DJ, Pineda JA, Gorman KS, Friez MJ, et al. Ovarian transplantation between monozygotic twins discordant for premature ovarian failure. N Engl J Med 2005; 353(1):58-63.
62. Donnez J, Dolmans MM, Pirard C, Van Langendonckt A, Demylle D, Jadoul P, et al. Allograft of ovarian cortex between two genetically nonidentical sisters: case report. Hum Reprod 2007; 22(10):2653-9.

63. Silber SJ, DeRosa M, Pineda J, Lenahan K, Grenia D, Gorman K, et al. A series of monozygotic twins discordant for ovarian failure: ovary transplantation (cortical versus microvascular) and cryopreservation. Hum Reprod 2008; 23(7):1531-7.
64. Padykula HA. Regeneration in the primate uterus: the role of stem cells. Ann N Y Acad Sci 1991; 622:47-56.
65. Chan RW, Schwab KE, Gargett CE. Clonogenicity of human endometrial epithelial and stromal cells. Biol Reprod 2004; 70(6):1738-50.
66. Taylor HS. Endometrial cells derived from donor stem cells in bone marrow transplant recipients. JAMA 2004; 292(1):81-5.
67. Dimitrov R, Timeva T, Kyurkchiev D, Stamenova M, Shterev A, Kostova P, et al. Characterization of clonogenic stromal cells isolated from human endometrium. Reproduction 2008; 135(4):551-8.
68. Du H, Taylor HS. Contribution of bone marrow-derived stem cells to endometrium and endometriosis. Stem Cells 2007; 25(8):2082-6.
69. Bratincsák A, Brownstein MJ, Cassiani-Ingoni R, Pastorino S, Szalayova I, Tóth ZE, et al. CD45-positive blood cells give rise to uterine epithelial cells in mice. Stem Cells 2007; 25(11):2820-6.
70. Mints M, Jansson M, Sadeghi B, Westgren M, Uzunel M, Hassan M, et al. Endometrial endothelial cells are derived from donor stem cells in a bone marrow transplant recipient. Hum Reprod 2008; 23(1):139-43.
71. In ‘t Anker PS, Scherjon SA, Kleijburg-van der Keur C, de Groot-Swings GM, Claas FH, Fibbe WE, et al. Isolation of mesenchymal stem cells of fetal or maternal origin from human placenta. Stem Cells 2004; 22(7):1338-45.
72. Yen BL, Chien CC, Chen YC, Chen JT, Huang JS, Lee FK, et al. Placenta-derived multipotent cells differentiate into neuronal and glial cells in vitro. Tissue Eng Part A 2008; 14(1):9-17.
73. Schwab KE, Gargett CE. Co-expression of two perivascular cell markers isolates mesenchymal stem-like cells from human endometrium. Hum Reprod 2007; 22(11):2903-11.
74. Wolff EF, Wolff AB, Du H, Taylor HS. Demonstration of multipotent stem cells in the adult human endometrium by in vitro chondrogenesis. Reprod Sci 2007; 14(6):524-33.
75. Nematolahi Mahan SN, Kermani M, Latifpour M, Salehinejad P. Properties of mesenchymal cells in human umbilical cord matrix. Fertil Infertil J 2008; 15:1-3. (Persian).
76. Lin H. The stem-cell niche theory: lessons from flies. Nat Rev Genet 2002; 3(12):931-40.
77. Khanhzad M, Abolhasani F, Koruji SM, Ragrdy Kashani I, Aliakbari F. The roles of Sertoli cells in fate determinations of spermatogonial stem cells. Tehran Univ Med J 2016; 73(12):878-87. (Persian).
78. Nayernia K. Stem cells in male reproduction. Int J Reprod Biomed 2009; 7:2.
79. Eguizabal N, Montserrat R, Vassena N, Barragan M, Garreta E, Garcia-Quevedo L, et al. Complete meiosis from human induced pluripotent stem cells. Stem Cells 2011; 29(8):1186-95.
80. Zhu Y, Hu HL, Li P, Yang S, Zhang W, Ding H, et al. Generationofmale germ cells from induced pluripotent stem cells (iPS cells): an in vitro and in vivo study. Asian J Androl 2012; 14(4):574-9.
81. Kanatsu-Shinohara M, Lee J, Inoue K, Ogonuki N, Miki H, Toyokuni S, et al. Pluripotency of a single spermatogonial stem cell in mice. Biol Reprod 2008; 78(4):681-7.
82. McLaren A. Primordial germcells in themouse. Dev Biol 2003; 262(1):1-15.
83. McLean DJ. Spermatogonial stem cell transplantation and testicular function. Cell Tissue Res 2005; 322(1):21-31.
84. Hubner K, Fuhrmann G, Christenson LK, Kehler J, Reinbold R, De La Fuente R, et al. Derivation of oocytes from mouse embryonic stem cells. Science 2003; 300(5623):1251-6.
85. Nayernia K, Nolte J, Michelmann HW, Lee JH, Rathsack K, Drusenheimer N, et al. In vitro-differentiated embryonic stem cells give rise to male gametesthat can generate offspring mice. Dev Cell 2006; 11(1):125-32.
86. Zhao XY, Li W, Lv Z, Liu L, Tong M, Hai T, et al. Viable fertilemice generatedfrom fully pluripotent iPS cells derived from adult somatic cells. Stem Cell Rev 2010; 6(3):390-7.
87. Clark AT, Bodnar MS, Fox M, Rodriquez RT, Abeyta MJ, Firpo MT, et al. Spontaneous differentiation of germcells fromhuman embryonic stemcells in vitro. Hum Mol Gene 2004; 13(7):727-39.
88. Kee K, Gonsalves JM, Clark AT, Pera RA. Bone morphogenetic proteins induce germ cell differentiation from human embryonic stem cells. Stem Cells Dev 2006; 15(6):831-7.
89. Mikkola M, Olsson C, Palgi J, Ustinov J, Palomaki T, Horelli-Kuitunen N, et al. Distinct differentiation characteristics of individual human embryonic stem cell lines. BMC Dev Biol 2006; 6:40.
90. Chen HF, Kuo HC, Chien CL, Shun CT, Yao YL, Ip PL, et al. Derivation, characterization and differentiation of human embryonic stem cells: comparing serum-containing versus serum-free media and evidence of germcell differentiation. Hum Reprod 2007; 22(2):567-77.
91. Tilgner K, Atkinson SP, Golebiewska A, Stojkovi´c M, Lako M, Armstrong L. Isolation of primordial germ cells from differentiating human embryonic stem cells. Stem Cells 2008; 26(12):3075-85.
92. Easley CA, Phillips BT, McGuire MM, Barringer JM, Valli H, Hermann BP, et al. Direct differentiation of human pluripotent stem cells into haploid spermatogenic cells. Cell Rep 2012; 2(3):440-6.
93. Yang S, Bo J, Hu H, Guo X, Tian R, Sun C, et al, Derivation of male germ cells frominduced pluripotent stemcells in vitro and in reconstituted seminiferous tubules. Cell Prolif 2012; 45(2):91-100.
94. Li P, Hu H, Yang S, Tian R, Zhang Z, Zhang W, et al. Differentiation of induced pluripotent stem cells into male germ cells in vitro through embryoid body formation and retinoic acid or testosterone induction. Bio Med Res Int 2013; 2013:608728.
95. Malik N, Rao MS. A review of the methods for human iPSC derivation. Methods Mol Biol 2013; 997:23-33.

96. Xu XL, Yi F, Pan HZ, Duan SL, Ding ZC, Yuan GH, et al. Progress and prospects in stem cell therapy. Acta Pharmacol Sin 2013; 34(6):741-6.
97. Hayashi K, Ohta H, Kurimoto K, Aramaki S, Saitou M. Reconstitution of the mouse germ cell specification pathway in culture by pluripotent stem cells. Cell 2011; 146(4):519-32.
98. Ohinata Y, Ohta H, Shigeta M, Yamanaka K, Wakayama T, Saitou M. A signaling principle for the specification of the germcell lineage in mice. Cell 2009; 137(3):571-84.
99. Cai H, Xia X, Wang L, Liu Y, He Z, Guo Q, et al. In vitro and in vivo differentiation of induced pluripotent stem cells into male germ cells. Biochem Biophys Res Commun 2013; 433(3):286-91.
100. Easley CA, Simerly CR, Schatten G. Stem cell therapeutic possibilities: future therapeutic options for malefactor and female-factor infertility? Reprod Biomed Online 2013; 27(1):75-80.
101. The use of stem cells in the field of infertility is still not operational. Iranian Stem Cell Information Center. Availabel at: URL: http://www.bonyannews.ir/News/ctl/ArticleView/mid/902/articleId/363; 2011.
102. Sperm production of skin/genetic infertility in men treated. Mehr News. Availabel at: URL: http://www.mehrnews.com/news/2283712/; 2014.
103. Scientists made babies from mouse skin cells. TechChunch. Availabel at: URL: https://techcrunch.com/2016/10/21/scientists-made-babies-from-mouse-skin-cells/; 2016
104. Ogawa T, Dobrinski I, Avarbock MR, Brinster RL. Transplantation of male germ line stem cells restores fertility in infertile mice. Nature Med 2000; 6(1):29.
105. Mohzab A, Heidari M, Salehkho S, Jedytehrani M, Akhondi MM. Preserving fertility in boys and men with cancer. Fertil Infertil J 2011; 12(2):73-84. (Persian).
106. Zeng W, Avelar GF, Rathi R, Franca LR, Dobrinski I. The length of the spermatogenic cycle is conserved in porcine and ovine testis xenografts. J Androl 2006; 27(4):527-33.
107. Zeng W, Rathi R, Pan H, Dobrinski I. Comparison of global gene expression between porcine testis tissue xenografts and porcine testis in situ. Mol Reprod Dev 2007; 74(6):674-9.
108. Fujita K, Tsujimura A, Hirai T, Ohta H, Matsuoka Y, Miyagawa Y, et al. Effect of human leukemia cells in testicular tissues grafted into immunodeficient mice. Int J Urol 2008; 15(8):733-8.
109. Brinster RL, Avarbock MR. Germline transmission of donor haplotype following spermatogonial transplantation. Proc Natl Acad Sci U S A 1994; 91(24):11303-7.
110. Brinster RL, Zimmermann JW. Spermatogenesis following male germ-cell transplantation. Proc Natl Acad Sci U S A 1994; 91(24):11298-302.
111. Dobrinski I. Transplantation of germ line stem cells for the study and manipulation of spermatogenesis. Ernst Schering Res Found Workshop 2006; 60:175-93.
112. Radford J. Restoration of fertility after treatment for cancer. Horm Res 2003; 59(Suppl 1):21-3.
113. Geens M, Goossens E, De Block G, Ning L, Van Saen D, Tournaye H. Autologous spermatogonial stem cell transplantation in man: current obstacles for a future clinical application. Hum Reprod Update 2008; 14:121-30.
114. Schlatt S, Kim SS, Gosden R. Spermatogenesis and steroidogenesis in mouse, hamster and monkey testicular tissue after cryopreservation and heterotopic grafting to castrated hosts. Reproduction 2002; 124(3):339-46.
115. Honaramooz A, Li MW, Penedo MC, Meyers S, Dobrinski I. Accelerated maturation of primate testis by xenografting into mice. Biol Reprod 2004; 70(5):1500-3.
116. Schlatt S, Honaramooz A, Ehmcke J, Goebell PJ, Rübben H, Dhir R, et al. Limited survival of adult human testicular tissue as ectopic xenograft. Hum Reprod 2006; 21(2):384-9.
117. Keros V, Hultenby K, Borgström B, Fridström M, Jahnukainen K, Hovatta O. Methods of cryopreservation of testicular tissue with viable spermatogonia in pre-pubertal boys undergoing gonadotoxic cancer treatment. Hum Reprod 2007; 22(5):1384-95.
118. Wyns C, Curaba M, Martinez-Madrid B, Van Langendonckt A, François-Xavier W, Donnez J. Spermatogonial survival after cryopreservation and short-term orthotopic immature human cryptorchid testicular tissue grafting to immunodeficient mice. Hum Reprod 2007; 22(6):1603-11.
119. Luetjens CM, Stukenborg JB, Nieschlag E, Simoni M, Wistuba J. Complete spermatogenesis in orthotopic but not in ectopic transplants of autologously grafted marmoset testicular tissue. Endocrinology 2008; 149(4):1736-47.
120. Behbahani S, Karimi M. Stem cell. J Biom Eng 2012; 136:26.
121. The use of stem cells for the treatment of infertility. Hamshahri Online. Availabel at: URL: http://www.hamshahrionline.ir/details/129212/Science/medical; 2010.
122. Bahadur G. Ethics of testicular stem cell medicine. Hum Reprod 2004; 19(12):2702-10.
123. Treatment of male infertility with stem cells. Iran Newspaper. Availabel at: URL: http://www.magiran.com/npview.asp?ID=2731102; 2013.
124. Zadhydr S. Male infertility treatment by sperm from stem cells. Medical and Clinical Laboratory Science. Availabel at: URL: http://macls.ir/?p=4099; 2016.
125. Rivas A. Infertility treatment may soon include artificial sperm, egg cells derived from stem cells. Medical Daily. Availabel at: URL: http://www.medicaldaily.com/infertility-treatment-may-soon-include-artificial-sperm-egg-cells-derived-stem-cells-315622. Accessed December 28, 2014.