

Review Article

## Premature Ovarian Insufficiency Treatment with Human Mesenchymal Stem Cells: a Review Article

Javanshir R, Salimnejad R\*, Golmohammadi MGh, Kalarestaghi H\*

Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran.

\* **Corresponding authors.** Tel: +984533534680, Fax: +984533534694

E-Mail: [h.kalarestaghi111@gmail.com](mailto:h.kalarestaghi111@gmail.com), [R.salimnegad67@gmail.com](mailto:R.salimnegad67@gmail.com)

### Article info

#### Article history:

Received: Jun 11, 2023

Accepted: Sep 9, 2023

#### Keywords:

Mesenchymal Stem Cell  
Premature Ovarian  
Insufficiency  
Infertility

### ABSTRACT

Premature Ovarian Insufficiency (POI) refers to the loss of ovarian function before the age of 40. This condition can be attributed to various factors including X chromosome abnormalities, autoimmune disorders, and chemotherapy drugs. Hormone therapy is a commonly used treatment for POI, but due to side effects and low fertility rates, alternative treatment options are needed. In recent years, stem cell transplantation has emerged as a promising treatment approach, offering hope for improving and restoring ovarian function. Stem cells possess the unique ability of self-renewal and regeneration, making them potentially effective in addressing ovarian failure and subsequent infertility. Different types of stem cells have been investigated for the treatment of POI, including mesenchymal stem cells (MSCs), stem cells from extraembryonic tissues, induced pluripotent stem cells (iPSCs), and ovarian stem cells. This article aims to provide an overview of the causes and treatment options for Premature Ovarian Insufficiency, with a particular focus on stem cell therapy as suggested by previous studies.

How to cite this article: Javanshir R, Salimnejad R, Golmohammadi MGh, Kalarestaghi H. Premature Ovarian Insufficiency Treatment with Human Mesenchymal Stem Cells: a Review Article. J Ardabil Univ Med Sci. 2023;23(2): 111-125.

## Extended Abstract

**Background:** The average age for natural menopause in women is approximately 48–51 years. Premature ovarian insufficiency (POI), is defined as the cessation of menstruation due to loss of ovarian function before the age of 40 years and affects approximately 1%–3% of women before 40, 0.1% of women before 30, and 0.01% of women before 20 years of age. POI has become one of the most severe problems threatening the reproductive health of women of normal childbearing age. This disorder can be caused by autoimmune, genetic, metabolic (galactosemia), chemotherapy drugs, radiotherapy and surgical side effects. This disease can be diagnosed based on a decrease in the number of follicles, abnormalities in the menstrual cycle, and infertility. The gold-standard diagnostic is a change in the levels of the main ovarian hormones such as FSH, AMH and estrogen. Women with POI are characterized by anovulation, estrogen deficiency, low AMH serum levels, a low antral follicle count and primary or secondary amenorrhea. This occurrence of POI leads to harmful effects on function of ovary and sterility. This article aims to provide an overview of the causes and treatment options for Premature Ovarian Insufficiency, with a particular focus on stem cell therapy as suggested by previous studies.

**Methods:** The terms “Treatment with Human Mesenchymal Stem Cells” and “Premature Ovarian” were searched focusing on premature ovarian insufficiency, in Web of Science / ISI, PubMed and Ovid ProQuest, Scopus.

**Results:** Therefore, it is essential to find a safer and more effective way to treat POI. Regenerative medicine, an alternative therapeutic for cell, tissue, and organ restoration techniques, has been developed to treat organ dysfunction. Some of the key components of regenerative medicine are mesenchymal stem cells (MSCs). Mesenchymal stem cells (MSCs) are multipotent stem cell that they have the ability to self-renew and differentiate into specific tissues according to the surrounding environment and signals. MSCs are widely used in research and therapeutics because of their

ability to differentiate down multiple lineages of cells, such as chondrocytes, osteocytes, adipocytes, hepatocytes, and even neurons and their low immunogenicity potential, anti-apoptosis activity, secretion of growth factors, cytokines and miRNA involved in tissue regeneration. MSCs are grouped into embryonic and adult MSCs. MSCs can be isolated from various sources, including bone marrow, fat tissue, amniotic fluid, umbilical cord, placenta and skin. In recent years, MSC transplantation has opened up a new direction for the treatment of POI, but this is still in the stage of preclinical research, and there are few clinical studies so far. The mechanism by which MSCs improve ovarian function has also not been completely elucidated. This review will summarize relevant studies on therapeutic mechanism involved in MSCs-mediated treatment of POI, and report limitations in the current studies in this field and provides a basis for future application of MSCs in clinical practice. The basis of literature review, several types of MSCs including human bone marrow mesenchymal stem cells (hBMMSCs), human adipose-derived stem cells (hASCs), human amniotic membrane stem cells (hAMSCs), umbilical cord stem cells (UCMSCs) and human menstrual blood-derived stem cells (hMB- MSCs) have been used to restore ovarian tissue function in POI disease. Human bone marrow mesenchymal stem cells (hBMMSCs) are isolated from bone marrow. hBMMSCs were the first mesenchymal stem cells used to evaluate the therapeutic ability of mesenchymal cells against chemotherapy-induced POI mouse models, and it has been found that hBMMSCs can prevent apoptosis of germ cell and DNA damage in mice undergoing chemotherapy and increase the number of antral follicles, increasing the level of estrogen and AMH, and increasing the pregnancy rate. This cell has increased angiogenesis and tissue repair in human ovarian tissue through the secretion of growth factor TGF- $\alpha$ , epidermal growth factor (EGF), vascular endothelial growth factor (VEGFA). Despite the widespread use of hBMMSCs in studies, extraction of this cell is an invasive and painful method. Studies have shown that hMB-MSCs inhibit apoptosis, increase the proliferation of ovarian follicles, increase ovarian size, increase estrogen, inhibit

A, inhibin B, and AMH and ultimately improve ovarian function. Therefore, based on the literature review of this article, it can be concluded that a number of mesenchymal stem cells can have a positive effect on the treatment of POI and improve ovarian function by inhibiting the apoptosis of granulosa cells, regulating ovarian hormones, and increasing fertility.

**Conclusion:** Laparoscopy shows a lack of follicle development and atrophy of the uterus and vaginal mucosa in POI patients. Follicle-stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone (LH) are essential for the growth and development of the follicles (Folliculogenesis). During Folliculogenesis, primordial follicles turn into primary follicles then preantral and finally antral follicles and after this stage ovulation occurs. This normal process is altered during POF. In addition, POI involves menopausal syndrome, which may include hot flushes, night sweats, heart palpitations, insomnia, headaches, immunological disorders, cardiovascular diseases and osteoporosis. Currently, in clinics, hormone replacement therapy is the most commonly used

management for POI patients but hormone therapy has been associated with an increased risk of reproductive cancer. Premature Ovarian Insufficiency (POI) refers to the loss of ovarian function before the age of 40. This condition can be attributed to various factors including X chromosome abnormalities, autoimmune disorders, and chemotherapy drugs. Hormone therapy is a commonly used treatment for POI, but due to side effects and low fertility rates, alternative treatment options are needed. In recent years, stem cell transplantation has emerged as a promising treatment approach, offering hope for improving and restoring ovarian function. Stem cells possess the unique ability of self-renewal and regeneration, making them potentially effective in addressing ovarian failure and subsequent infertility. Different types of stem cells have been investigated for the treatment of POI, including mesenchymal stem cells (MSCs), stem cells from extraembryonic tissues, induced pluripotent stem cells (iPSCs), and ovarian stem cells.

**Keywords:** Mesenchymal Stem Cell; Premature Ovarian Insufficiency; Infertility

## درمان نارسایی زودرس تخمدان با سلول‌های بنیادی مزانشیمی انسانی: مقاله مروری

رضا جوانشیر، رامین سلیم نژاد\*، محمدقاسم گل‌محمدی، حسین کلارستانی\*

گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

\* نویسندگان مسئول. تلفن: ۰۴۵۳۳۵۳۴۶۸۰ فاکس: ۰۴۵۳۳۵۳۴۶۹۴

پست الکترونیک: R.salimnegad67@gmail.com, h.kalarestaghy111@gmail.com

### چکیده

به از دست دادن عملکرد تخمدان قبل از ۴۰ سالگی نارسایی زودرس تخمدان (POI) گفته می‌شود. عوامل مختلفی از جمله ناهنجاری‌های کروموزوم X، اختلالات خود ایمنی و داروهای شیمی درمانی می‌تواند در پاتوژنز POI دخیل باشد. هورمون تراپی یک درمان رایج برای POI است، اما به دلیل عوارض جانبی و نرخ باروری پایین، گزینه‌های درمانی جایگزین مورد نیاز است. در سال‌های اخیر، پیوند سلول‌های بنیادی به عنوان یک رویکرد درمانی امیدوارکننده ظاهر شده است که امیدی برای بهبود و بازیابی عملکرد تخمدان‌ها ایجاد کرده است. سلول‌های بنیادی دارای توانایی منحصر به فرد خود نوسازی و بازسازی هستند که آن‌ها را به طور بالقوه در درمان POI و ناباروری متعاقب آن موثر می‌کند. انواع مختلفی از سلول‌های بنیادی برای درمان POI مورد بررسی قرار گرفته‌اند، از جمله سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSCs)، سلول‌های بنیادی از بافت‌های خارج جنینی، سلول‌های بنیادی پرتوان القایی (iPSCs) و سلول‌های بنیادی تخمدان. هدف این مقاله ارائه مروری بر علل و گزینه‌های درمانی POI، با تمرکز ویژه بر درمان با سلول‌های بنیادی است که توسط مطالعات قبلی پیشنهاد شده است.

**واژه‌های کلیدی:** سلول‌های بنیادی مزانشیمی، نارسایی زودرس تخمدانی، ناباروری

دریافت: ۱۴۰۲/۳/۲۱ پذیرش: ۱۴۰۲/۶/۱۸

### مقدمه

فولیکول است و با افزایش سن زنان، ذخیره تخمدانی همچنان کاهش می‌باشد [۱،۲]. بنابراین، کاهش کمیت و کیفیت تخمک در طول زندگی باروری زنان یک فرآیند فیزیولوژیکی است. با این حال، در برخی از زنان، زوال تخمدان به طور ناگهانی رخ می‌دهد و آنها دچار ناباروری ناشی از نارسایی زودرس تخمدان می‌شوند [۳].

رشد فولیکول‌های تخمدانی در طی دوره جنینی بعد از تشکیل تخمدان شروع شده و ذخیره فولیکول‌ها در هفته‌های ۱۶ تا ۲۰ جنینی به حداکثر خود می‌رسد. کاهش فولیکول‌ها قبل از تولد شروع می‌شود، به طوری که در زمان تولد نوزاد دختر، حدود یک میلیون فولیکول در تخمدان نوزاد باقی می‌ماند. در زمان بلوغ، هر تخمدان حاوی حدود ۴۰۰۰۰۰

نارسایی زودرس تخمدان (POI<sup>۱</sup>) وضعیتی است که با از دست دادن عملکرد تخمدان قبل از چهل سالگی در زنان مشخص می‌شود [۴]. از نظر بالینی نارسایی زودرس تخمدان یک حالت هیپوگنادیسم و هیپرگنادوتروپیک است که با آمنوره اولیه یا ثانویه، ناباروری و علائم کمبود استروژن ظاهر می‌شود. بروز POI وابسته به سن است و از هر ۲۵۰ زن ۱ نفر در سن ۳۵ سالگی و از هر ۱۰۰ زن ۱ نفر را در سن ۴۰ سالگی تحت تاثیر قرار می‌دهد. تشخیص بر اساس افزایش سطح هورمون محرک فولیکول بیش از (۲۵ IU/L) در دو نوبت به فاصله ۱ ماه، همراه با سطوح پایین استرادیول ( $< 50 \text{ pg/Ml}$ ) و آمنوره برای حداقل ۴ ماه در زنان کمتر از ۴۰ سال تأیید می‌شود [۵،۶]. یکی از مهمترین عواملی که سبب ایجاد نارسایی زودرس تخمدانی است، اختلالات هورمونی محور هیپوتالاموس-گناد می‌باشد، که در این حالت سطح هورمون‌های جنسی از جمله FSH<sup>۲</sup> افزایش پیدا می‌کند و هورمون Inhibin B نیز که کنترل کننده سطح هورمون‌ها می‌باشد، کاهش پیدا می‌کند. این حالت سبب می‌شود که سطح هورمون FSH در این افراد اکثراً بالا باشد و چون این هورمون تحریک کننده فولیکول‌وژنز می‌باشد، سبب می‌شود تا فولیکول‌های بیشتری تحریک شود و از طرفی چون سطح این هورمون بالا است اجازه نمی‌دهد تا فرایند فولیکول‌وژنز بصورت طبیعی طی شود و از این طریق سبب کاهش ذخیره تخمدانی شده و باعث اختلال در سیکل جنسی این افراد می‌شود. کاهش ذخیره تخمدانی سبب کاهش سطح هورمون AMH<sup>۳</sup> می‌شود [۷،۸]. روش درمانی که امروزه برای نارسایی زودرس تخمدانی صورت می‌گیرد، هورمون تراپی می‌باشد. در این روش از هورمون‌های استروژن و پروژسترون استفاده می‌شود. اما مشخص شده است

که تجویز این هورمون‌ها در طولانی مدت باعث افزایش ریسک ابتلا به بیماری‌های قلبی-عروقی و همچنین سرطان اندومتر و سینه می‌شود [۹،۱۰]. لذا امروزه دنبال روش‌های جایگزینی هستند که موثر و ایمن باشند و برای درمان این بیماران بتوان استفاده کرد. در سال‌های اخیر، پیوند سلول‌های بنیادی برای درمان این بیماری، با توجه به نتایج حاصل از آزمایشات حیوانی امیدواری‌هایی برای بهبود و درمان عملکرد تخمدان بوجود آورده است [۹،۱۱]. سلول‌های بنیادی از این نظر منحصر به فرد هستند که توانایی خودنوسازی و تمایز به بافت‌های خاص را با توجه به محیط اطراف و سیگنال‌ها دارند. سلول‌های بنیادی را می‌توان به طور تقریبی به سلول‌های بنیادی پرتوان و چندتوان با توجه به پتانسیل تمایز آن‌ها تقسیم کرد [۱۲]. سلول‌های بنیادی پرتوان می‌توانند به هر سلول مشتق شده از اندودرم، مزودرم و اکتودرم تمایز پیدا کنند، سلول‌های بنیادی جنینی (ESCs<sup>۴</sup>) از نوع سلول‌های بنیادی پرتوان هستند. آن‌ها از توده سلولی داخلی بلاستوسیست مشتق می‌شوند و دارای توانایی نامحدودی برای تمایز به انواع سلول‌ها می‌باشند [۱۳]. علیرغم قدرت نامحدودشان، ESCs به دلایل اخلاقی و خطر ایجاد سرطان و تراژوم، اغلب در تحقیقات کمتر استفاده می‌شوند. بدلیل اینکه فرآیند جداسازی و تهیه ESCs از بلاستوسیست در دوره جنینی انجام می‌شود، فرایندی تهاجمی و غیراخلاقی محسوب می‌شود [۱۴]. جایگزین‌های ESCs، سلول‌های بنیادی القایی (iPSCs<sup>۵</sup>) و سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSCs<sup>۶</sup>) هستند که بدلیل روش‌های جداسازی و تهیه آسانتر و غیر تهاجمی و همچنین خطرات تومورزائی کمتر، بیشتر در تحقیقات مورد استفاده قرار می‌گیرند [۱۵]. iPSCs سلول‌های بنیادی مصنوعی هستند که با برنامه ریزی مجدد

<sup>۴</sup> Embryonic Stem Cells

<sup>۵</sup> Induced Pluripotent Stem Cells

<sup>۶</sup> Mesenchymal Stem Cells

<sup>۱</sup> Premature Ovarian Insufficiency

<sup>۲</sup> Follicle-Stimulating Hormone

<sup>۳</sup> Anti-Müllerian Hormone

سلول‌هائی مانند فیبروبلاست‌ها ساخته می‌شوند. به این ترتیب، iPSCs چندتوان را می‌توان بدون هیچ گونه محدودیت اخلاقی مورد استفاده قرار داد [۱۳]. سلول‌های بنیادی مزانشیمی سلول‌های بنیادی بالغ چند توان مشتق از مزودرم هستند که به دلیل توانایی آنها در تمایز چندین رده از سلول‌ها و بافت‌ها، مانند سلول‌های غضروفی، استخوانی [۱۲]، چربی، سلول‌های کبدی [۱۶] و نورون‌ها به طور گسترده در تحقیقات و درمان استفاده می‌شوند [۱۵]. سلول‌های بنیادی مزانشیمی را می‌توان از منابع مختلفی از جمله مغز استخوان (BMSCs<sup>۱</sup>)، بافت چربی (ADSCs<sup>۲</sup>)، مایع آمنیوتیک، بند ناف، جفت و پوست جدا کرد [۱۷]. از مزایای MSCs روش‌های جداسازی آسان و در دسترس و غیر تهاجمی، ایمنی زایی کم و تعدیل کننده ایمنی می‌باشد [۱۸]. منابع متعددی از سلول‌های بنیادی چند توان هم در بزرگسالان و هم در جنین‌ها وجود دارد. برخی اتولوگ هستند، به این معنی که می‌توانند به خود اهدا کننده پیوند شوند و برخی آلورژیک هستند، به این معنی که می‌توانند به بیمارانی غیر از اهدا کننده پیوند شوند [۱۹]. سلول‌های بنیادی بزرگسالان مشتق از بافت چربی و مغز استخوان از رایج‌ترین منابع سلول‌های بنیادی هستند که می‌توان آن را از هر فرد بالغی جدا کرد و به روش اتولوگ و آلورژیک پیوند زد [۲۰]. جداسازی این سلول‌های بنیادی در مقایسه با سایر سلول‌های بنیادی نسبتاً آسان و ایمن‌تر هستند. برخی از سلول‌های بنیادی را می‌توان در دوران بارداری یا بعد از زایمان جدا کرد. انواع مختلفی از سلول‌های بنیادی از مایع آمنیوتیک و یا بند ناف به دست می‌آیند. سلول‌های آمنیوتیک انسانی (hAECs<sup>۳</sup>) و سلول‌های بنیادی مایع آمنیوتیک (AFSCs<sup>۴</sup>) که به عنوان سلول‌های بنیادی آمنیوتیک انسانی شناخته می‌شوند از مایع آمنیوتیک یا غشاء جدا

می‌شوند [۲۱]. پس از تولد کودک، بند ناف منبعی برای سلول‌های بنیادی مزانشیمی است. برخی از این سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بند ناف، سلول‌های بنیادی مزانشیمی ورید بند ناف انسانی (hUCV-MSCs<sup>۵</sup>) نامیده می‌شوند [۲۱].

سلول‌های بنیادی مزانشیمی می‌تواند سبب افزایش تکثیر سلول‌های گرانولوزای تخمدانی شوند. سلول‌های گرانولوزای تخمدانی (OGCs<sup>۶</sup>) مهم‌ترین سلول‌های استرومایی در تخمدان هستند که در رشد تخمک و بلوغ فولیکول‌ها از طریق مکانیسم‌های اتوکرین، پاراکرین و تنظیم گنادوتروپین‌ها نقش دارند [۲۲]. OGCs در تمام مراحل رشد فولیکول‌ها نقش دارند. ناهنجاری‌های OGCs می‌تواند منجر به ترشح غیرطبیعی هورمون، اختلالات رشد فولیکولی و آترزی فولیکولی شود [۲۳، ۲۴]. بهبود عملکرد OGCs و مهار آپوپتوز آنها می‌تواند از ایجاد POI جلوگیری کند [۲۵]. سلول‌های بنیادی مزانشیمی می‌توانند از طریق ترشح سیتوکین‌ها، فاکتورهای رشد، افزایش ژن‌های مربوط به تکثیر و همچنین مهار ژن‌های مربوط به آپوپتوز، سبب افزایش تکثیر OGCs و مهار آپوپتوز آنها شوند [۲۶]. وانگ و همکاران نشان دادند که سلول‌های بنیادی مزانشیمی با ترشح فاکتورهای رشد VEGF<sup>۷</sup>، IGF-1<sup>۸</sup>، GCSF<sup>۹</sup> و HGF<sup>۱۰</sup> می‌توانند رگ‌زایی تخمدان را تقویت کرده و فیبروز بینابینی را کاهش دهند و با مهار فعال شدن و تکثیر لنفوسیت‌ها، مهار و ترشح سیتوکین‌های پیش التهابی و کاهش عملکرد سلول‌های ارائه دهنده آنتی‌ژن سبب کاهش التهاب می‌شوند [۲۷]. شیا و همکاران نشان دادند که پیوند سلول‌های بنیادی مزانشیمی می‌تواند سطوح بیان VEGF، FGF2<sup>۱۱</sup> و آنژیوژنین را افزایش داده و

<sup>۵</sup> Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells

<sup>۶</sup> Ovarian Granulosa Cells

<sup>۷</sup> Vascular Endothelial Growth Factor

<sup>۸</sup> Insulin-like Growth Factor 1

<sup>۹</sup> Granulocyte Colony-stimulating Factor

<sup>۱۰</sup> Hepatocyte Growth Factor

<sup>۱۱</sup> Fibroblast Growth Factor 2

<sup>۱</sup> Bone Marrow Stromal Cells

<sup>۲</sup> Adipose-derived Stem Cells

<sup>۳</sup> Human Amniotic/Amnion Epithelial Cells

<sup>۴</sup> Amniotic Fluid Stem Cells



به طور قابل توجهی رگ‌زایی را تحریک کرده و خون‌رسانی را در بافت تخمدان افزایش دهند [۲۸]. همچنین سایر مطالعات نیز بیان کردند که پیوند سلول‌های بنیادی مزانشیمی می‌تواند تخمدان‌های آسیب دیده ناشی از POI را ترمیم کرده و رشد و عملکرد تخمدان را از طریق رگ‌زایی ارتقا دهد [۲۹].

### علت شناسی

تخمدان انسان حاوی یک مجموعه محدود و غیر قابل تجدید از فولیکول‌های ساکن است که در بدو تولد تعیین می‌شوند. طی فرآیند فولیکولوژنز، سلول‌های گرانولوزا و تکا به تخمک کمک می‌کنند تا رشد فولیکول اولیه را به سمت مرحله آنترال و تخمک‌گذاری ببرد [۳۰، ۳۱]. مکانیسم‌های داخل تخمدانی تعداد کمی از فولیکول‌های اولیه را فعال می‌کنند و اگرچه اکثر آن‌ها تحت آترزی قرار می‌گیرند، تعدادی از آن‌ها نیز به مرحله بلوغ پیشرفته قبل از تخمک‌گذاری می‌رسند [۳۲]. کاهش فولیکولی در یائسگی زمانی رخ می‌دهد که کمتر از ۱۰۰۰ فولیکول ساکن در تخمدان باقی بماند [۳۳]. در POI، این فرآیند تغییر می‌کند و احتمالاً اختلال عملکرد فولیکولی و کاهش فولیکول‌ها می‌تواند زمینه ساز POI باشد [۳۴]. اگرچه دانش علمی در مورد عوامل کنترل کننده ذخیره تخمدانی محدود است و علت POI هنوز به طور کامل شناخته نشده است اما عوامل مختلفی می‌توانند حفظ و رشد فولیکول‌ها را تغییر دهند. در واقع، POI می‌تواند به طور خود به خود یا توسط عوامل مختلف از جمله ناهنجاری‌های کروموزوم X، ناهنجاری‌های ژنتیکی اتوزومی، اختلالات خودایمنی، نقص‌های آنزیمی و POI ناشی از داروهای شیمی درمانی ایجاد شود [۳۵-۳۷]. رایج‌ترین درمان بالینی POI هنوز درمان جایگزینی هورمونی است. هورمون تراپی خطر ابتلا به پوکی استخوان، بیماری‌های قلبی عروقی و دستگاه ادراری تناسلی را افزایش می‌دهد. درمان دیگر اهدای تخمک برای زنان

مبتلا به POI است. با این حال، منابع اهدایی تخمک بسیار کم هستند و بیمارانی که تخمک‌های اهدایی دریافت می‌کنند، نمی‌توانند فرزندان بیولوژیکی خود را داشته باشند. بنابراین، پزشکان به دنبال درمان‌های جدید برای POI هستند و پیوند سلول‌های بنیادی مزانشیمی هم به عنوان یک درمان، امیدوارکننده می‌باشد [۳۸، ۳۹]. نتایج حاصل از آزمایش‌های تزریق سلول‌های بنیادی مزانشیمی نشان داده‌اند که این سلول‌ها در بهبود عملکرد و باروری تخمدان در بیماران مبتلا به POI موثر بوده‌اند. در ادامه این مقاله به بررسی مکانیسم‌های درگیر درمان POI با انواع سلول‌های بنیادی مزانشیمی پرداخته شده است.

### سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان انسانی (hBMSCs)

سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان (hBMSCs<sup>۱</sup>)، سلول‌های چندتوانی هستند که از مغز استخوان جدا شده و از این سلول‌ها می‌توان در تمایز سلول‌های بنیادی بالغ، پزشکی بازساختی، سلول درمانی، مهندسی بافت و تولید رده‌های سلولی iPS استفاده کرد [۴۰]. علی‌رغم استفاده گسترده از hBMSCs در مطالعات، استخراج این سلول یک روش تهاجمی و دردناک می‌باشد. همچنین با افزایش سن بیماران، مقدار و همچنین توانایی تمایز و تکثیر hBMSCs کاهش می‌یابد [۲۰]. مهم‌تر از همه، پیوند آلوژنیک از hBMSCs ممکن است منجر به پاسخ ایمونولوژیک شود [۲۰]. در سال ۲۰۰۶، انجمن بین‌المللی سلول درمانی سه معیار اصلی را برای تعریف سلول‌های بنیادی مزانشیمی پیشنهاد کرد: (الف) چسبندگی به سطح پلاستیک، (ب) بیان بیشتر یا مساوی با ۹۵٪ مارکرهای CD73، CD105، و CD90 و بیان منفی و کمتر از ۲٪ مارکرهای CD14، CD19، و CD34، CD79، CD45 و HLA کلاس II (ج) پتانسیل

<sup>1</sup> Human Bone Marrow Derived Mesenchymal Stem Cells

تمایز چندین رده سلولی مثل سلول‌های بافت استخوانی، بافت غضروفی و چربی [۱۲]. hBMMSCs بعنوان اولین سلول‌های بنیادی مزانشیمی مورد استفاده برای ارزیابی توانایی درمانی سلول‌های مزانشیمی در برابر مدل‌های موش POI ناشی از شیمی درمانی بودند [۴۱]. مشخص شده است که hBMMSCs می‌توانند از آپوپتوز سلول‌های زایا و آسیب DNA در موش‌های تحت شیمی درمانی جلوگیری کنند [۴۲]. مطالعات نشان دادند که آپوپتوز سلول‌های گرانولوزا ناشی از سیس پلاتین در حضور hBMMSCs در شرایط آزمایشگاهی کاهش می‌یابد و تعداد فولیکول‌های آنترال، سطح هورمون‌های استروژن و AMH افزایش می‌یابد [۴۳]. محمد و همکاران در سال ۲۰۱۸ نشان دادند که hBMMSCs یک درمان امیدوارکننده برای POI ناشی از شیمی درمانی در موش می‌باشد. پس از تزریق hBMMSCs به موش‌های با مدل POI، افزایش قابل توجهی در سطوح استروژن، AMH، و اینیبین A و بیان FSHR<sup>۱</sup> دیده شده است، همچنین حیوانات تحت درمان افزایش نرخ بارداری را نشان دادند [۴۴]. پارک<sup>۲</sup> و همکاران نشان دادند که hBMMSCs بواسطه ترشح فاکتور رشد ( $TGF-\alpha^3$ )، فاکتور رشد اپیدرمی ( $EGF^4$ )، فاکتور رشد اندوتلیال عروقی-A ( $VEGFA^5$ ) و آنژیوپوئیتین-۲ ( $ANGPT2^6$ )، سبب افزایش تکثیر سلول‌های اندوتلیال و افزایش رگ زایی و ترمیم بافتی در بافت تخمدان انسان می‌شود [۴۵]. گوپتا و همکاران نیز در کارآزمایی‌های بالینی با استفاده از hBMMSCs استخراج شده از ستیغ ایلیاک سبب بهبود عملکرد تخمدان و باروری در یک زن ۴۵ ساله از طریق IVF شده‌اند [۴۶]. گبر و همکاران هم

از hBMMSCs استخراج شده از ستیغ ایلیاک در درمان ۳۰ زن ۱۸ تا ۴۰ ساله با بیماری POI استفاده کردند. در این مطالعه ۲۶ نفر از ۳۰ بیمار شامل (۸۶٫۷٪) کاهش سطح FSH و افزایش سطح استروژن و AMH را پس از ۴ هفته تزریق نشان دادند و این تغییر در طول دوره پیگیری ۴۸ هفته‌ای حفظ شد. ۱۸ بیمار (۶۰٪) تخمک گذاری با اندازه تخمک بین ۱۲-۲۰ میلی‌متر را نشان دادند. فقط یک بیمار حاملگی خود به خودی داشت، در حالی که سه بیمار تحت روش IVF قرار گرفتند. این مطالعه نشان می‌دهد که MSC اتولوگ ممکن است شرایط را در بیماران مبتلا به POI بهبود بخشد [۴۷]. ادسی و همکاران هم با تزریق hBMMSCs اتولوگ به تخمدان از طریق جراحی لاپاراسکوپی در ۱۰ زن مبتلا به POI، بیان کردند که دو بیمار چرخه قاعدگی خود را به دست آوردند و بارداری موفقی داشته‌اند و نوزاد سالمی به دنیا آوردند [۴۸]. هرایز و همکاران مطالعه خود را بر روی گروهی متشکل از ۱۵ زن با پاسخ ضعیف تخمدانی انجام دادند و در نتایج گزارش کردند که تزریق hBMMSCs منجر به بهبود تعداد فولیکول‌ها در ۱۲ نفر، بارداری در ۵ نفر شده است [۴۹]. این نتایج قابل توجه در انسان می‌تواند توجیه کاربرد hBMMSCs در درمان بیماران مبتلا به POI باشد.

### سلول‌های بنیادی مشتق از چربی انسان (hASCs)

روش استخراج سلول‌های بنیادی مشتق از چربی (hASCs<sup>۷</sup>) آسان، فراوان و در دسترس می‌باشد. hASCs را می‌توان از بافت چربی زیر جلدی در بازو، ران یا شکم به دست آورد [۴۰]. در مقایسه با سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان، hASCs توانایی تکثیر و خود تجدیدی بالاتری دارند و ثبات ژنتیکی بالاتری را در کشت طولانی مدت نشان می‌دهند [۵۰]. hASCs

<sup>7</sup> Human Adipose-derived Stem Cells

<sup>1</sup> FSHR Follicle Stimulating Hormone Receptor

<sup>2</sup> Park

<sup>3</sup> Transforming Growth Factor Alpha

<sup>4</sup> Epidermal Growth Factor

<sup>5</sup> Vascular Endothelial Growth Factor A

<sup>6</sup> Angiopoietin 2



## سلول‌های بنیادی غشای آمنیوتیک انسانی (hAMSCs)

سلول‌های بنیادی مزانشیمی غشای آمنیوتیک انسانی (hAMSCs) از مزودرم جنینی مشتق می‌شوند و از پرده آمنیوتیک بدست می‌آیند. این سلول‌ها دوکی و یا ستاره‌ای شکل هستند. hAMSCs نشانگرهای سطحی CD49d, CD73, CD44, CD29, CD105 و CD90 را بیان می‌کنند [۵۷]. hAMSCs فاکتور رشد شبه انسولین-۱ (IGF-1)، فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF)، فاکتور تمایز رشد ۹ (GDF-9)، فاکتور مهارکننده لوسمی (LIF) را ترشح می‌کنند. این فاکتورها سبب ترمیم بافتی می‌شوند [۵۸]. لیو و همکاران نشان دادند که تزریق hAMSCs در موش‌های القا شده با POI سیتوکین‌های التهابی را کاهش داده و این موش‌ها بدلیل افزایش استروژن و کاهش FSH که نشان‌دهنده از سرگیری عملکرد تخمدان می‌باشند، منجر به بارداری موفق شدند [۵۷]. شیائو و همکاران نیز نشان دادند که تزریق hAMSCs در موش‌های دارای POI منجر به رشد نرمال فولیکول، کاهش آتروزی فولیکول‌ها و بازایی باروری می‌شود [۵۹]. hAMSCs مزایای زیادی برای استفاده به عنوان منبع سلول‌های آلوژنیک برای بازسازی پزشکی بعلت قابلیت خودنوسازی، ظرفیت تمایز چندگانه، فعالیت سرکوب‌کننده سیستم ایمنی و پاراکرین، اثرات ضد التهابی، و خواص ضد فیبروتیک دارند [۶۰-۶۲]. علی‌رغم اینکه نتایج مطالعات حیوانی نشان‌دهنده نقش hAMSCs در درمان ناباروری در زمینه POI می‌باشند، منتهی اثربخشی و ایمنی آن‌ها در کاربردهای بالینی نیاز به مطالعه بیشتری دارند.

## سلول‌های بنیادی بند ناف (UCMSCs)

بند ناف یکی دیگر از منابع فراوان در دسترس سلول‌های بنیادی مزانشیمی می‌باشد که از سلول‌های

نشانگرهای سطحی CD73, CD44, CD29, CD105, CD49, CD90, CD34, CD14 و CD45 را بیان می‌کنند. hAMSCs با ترشح انواع فاکتورها، از جمله پروستاگلاندین E2 (PGE2) و IFN- $\gamma$  ایندول آمین ۲، ۳- دی‌اکسیژناز، سبب مهار مسیر NF-kB آپوپتوزی و مهار تکثیر سلول‌های ایمنی می‌شوند [۵۱]. اگزوزوم‌های مشتق شده از hAMSCs که در معرض هیپوکسی قرار گرفته بودند با فعال کردن مسیر سیگنالینگ پروتئین کیناز A (PKA) سبب افزایش بیان VEGF شده و می‌تواند فرایند رگ‌زایی را بهبود ببخشد [۵۲]. همچنین اگزوزوم‌های مشتق شده از hAMSCs تکثیر OGCs را افزایش می‌دهد و از طریق تنظیم مسیرهای SMAD2 و SMAD53، سبب کاهش آپوپتوز OGCs در POI می‌شود [۵۳]. نشان داده شده است که درمان همزمان hAMSCs و استروژن با هم سبب افزایش تکثیر سلول‌های T تنظیمی (Treg) و بیان Foxp3 و TGF- $\beta$ 1 در مدل POI و کاهش بیان فاکتورهای التهابی نظیر IFN- $\gamma$  می‌شود [۵۴]. علاوه بر این، درمان ترکیبی ASCs، VEGF و پلاسمای غنی از پلاکت، عملکرد تخمدان موش صحرایی را به طور قابل توجهی در مدل POI ناشی از سیکلوفسفامید از طریق افزایش بیان <sup>۱</sup>BMP4, IGF-1 و TGF- $\beta$  بهبود داده است [۵۵]. همچنین نشان داده‌اند که hAMSCs از طریق ترشح FGF2, IGF-1, HGF و VEGF سبب بهبود عملکرد تخمدان در موش‌های صحرایی با POI ناشی از شیمی‌درمانی از طریق مکانیسم پاراکرین شده است [۲۶]. مشایخی و همکاران با جداسازی سلول‌های بنیادی چربی از بافت شکم و تزریق این سلول‌ها بر روی ۹ بیمار زن نشان دادند که در چهار بیمار علائم بازگشت چرخه قاعدگی همراه با کاهش سطح FSH دیده شده است [۵۶]. به نظر می‌رسد استفاده از hAMSCs یک رویکرد درمانی قابل اجرا، ایمن و نوآورانه برای بیماران POI باشد.

<sup>2</sup> Human Amniotic Mesenchymal Stromal Cells

<sup>1</sup> Bone Morphogenetic Protein 4

بنیادی مزانشیمی مشتق از ژله وارتون (WJ-MSCs) به دست می‌آیند [۶۳، ۶۴].<sup>۱</sup> UCMSCs سلول‌های پیش‌ساز غیرخونساز و چندتوانی هستند که می‌توانند به رده‌های سلولی متعددی تمایز پیدا کنند [۶۳]. روش جمع‌آوری آن‌ها غیرتهاجمی می‌باشد. تزریق UCMSCs به بافت آسیب دیده یا مناطق ملتهب سبب ترمیم سریع‌تر بافت می‌شوند. UCMSCs دارای ظرفیت تکثیر، تمایز، فعالیت تعدیل‌کننده ایمنی و توانایی خودتجدیدی بالایی می‌باشند [۶۵]. UCMSCs به دلیل استخراج آسان و دسترسی زیاد، زمان تکثیر کوتاه و ایمنی‌زایی کم، کاندیدای مناسبی برای مهندسی و ترمیم بافتی هستند. UCMSCs دارای نشانگرهای سطحی CD90، CD73، CD29، CD105 و CD44 هستند. محمد و همکاران نشان دادند که تجویز UCMSCs در تخمدان‌های موش‌های POI ناشی از شیمی‌درمانی منجر به از سرگیری عملکرد تخمدان می‌شود. پس از درمان، کاهش قابل توجهی در سطح FSH، افزایش سطح AMH سرم، از سرگیری تخمک‌گذاری و بارداری و به دنبال آن زایمان نوزادان مشاهده شد [۴۴]. وانگ و همکاران (۲۰۲۱) در تحقیقات بالینی نشان دادند که تزریق داخل تخمدانی UCMSCs انسانی عملکرد تخمدان آسیب دیده را بهبود بخشیده، رشد فولیکولی را افزایش داده و سبب بارداری پس از درمان در ۴/۶۱ بیمار شده است [۲۴].

### سلول‌های بنیادی مشتق از خون قاعدگی انسانی (hMB-MSCs)

این نوع سلول‌های بنیادی توسط منگ و همکاران ارائه شدند [۶۶]. کوی<sup>۲</sup> و همکاران، نشان دادند که hMB-MSCs<sup>۳</sup> نشانگرهای سطحی CD9، CD29، CD41a، CD44، CD59، CD73، CD90 و CD105

<sup>۱</sup> Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cell

<sup>۲</sup> Cui

<sup>۳</sup> Human Menstrual Blood-derived MSCs

را بیان می‌کنند [۶۷]. لیو و همکاران نشان دادند که hMB-MSCs می‌توانند به سلول‌های بافت تخمدانی تمایز پیدا کنند [۴۴]. لای و همکاران نیز تمایز hMB-MSCs به سلول‌های زایا را تایید کردند و بیان داشتند که دسترسی به hMB-MSCs ها در مقایسه با hPMSCs و huMSCs آسانتر می‌باشد [۶۸]. همچنین، آن‌ها خواص مشابه سلول‌های بنیادی مزانشیمی را نشان می‌دهند. بنابراین hMB-MSCs منبع مناسبی از سلول‌های بنیادی مزانشیمی هستند که می‌توانند برای ترمیم بافت مورد استفاده قرار گیرند [۱۸]. پنگ و همکاران نشان دادند که تزریق hMB-MSCs استخراج شده از زنان ۲۵ تا ۳۵ ساله در یک مدل موش POI سبب مهار آپوپتوز و افزایش تکثیر فولیکول‌های تخمدانی شده است [۱۸]. وانگ و همکاران نشان دادند که تزریق داخل وریدی hMB-MSCs می‌تواند سبب ترمیم بافت تخمدان آسیب‌دیده در مدل موش POI شده و عملکرد تخمدان را با تحریک تکثیر فولیکول‌ها و افزایش اندازه تخمدان بهبود می‌بخشد. تزریق hMB-MSCs منجر به افزایش سطح هورمون‌هایی مانند استروژن، اینیبیین A، اینیبیین B و AMH و گیرنده‌های هورمونی مانند FSHR می‌شود. تصور می‌شود که اثرات ترمیمی این سلول‌ها از طریق مکانیسم‌های پاراکرین و بیان سطوح بالای فاکتور رشد فیبروبلاست ۲ (FGF2) انجام می‌شود [۶۹]. بنابراین استفاده از hMB-MSCs می‌تواند یک روش موثر برای درمان POI باشد. این مطالعات اولیه نتایج اطمینان بخشی را نشان می‌دهد، با این حال، کارهای بالینی در این زمینه بصورت محدودی انجام شده است.

### بحث

اگرچه اثرات درمانی سلول‌های بنیادی توسط مطالعات مختلف با استفاده از مدل‌های حیوانی و آزمایشات بالینی به اثبات رسیده و بیان شده است که سلول‌های بنیادی می‌توانند از طریق تقویت و احیاء

عارضه اتخاذ شده است. اگر علت اصلی POI شناسایی شود، درمان آن آسان‌تر خواهد بود. تشخیص و شناسایی علت POI نیاز به مطالعه بیشتر و روش جدید در آینده دارد.

### نتیجه‌گیری

نتایج کاربرد سلول‌های بنیادی مزانشیمی در درمان POI بر اساس مطالعات این مقاله را می‌توان به صورت زیر خلاصه کرد: (۱) مهاجرت سلول‌های بنیادی مزانشیمی؛ (۲) افزایش رشد و نمو فولیکول‌ها؛ (۳) القا و تمایز به سلول‌های زایای اولیه؛ (۴) تمایز مستقیم به GC‌ها یا مهار آپوپتوز GC‌ها؛ (۵) تقویت تشکیل رگ‌های خونی تخمدان؛ (۶) اثرات تعدیل‌کننده ایمنی و ضد التهابی؛ و (۷) کاهش استرس اکسیداتیو. بنابراین، سلول‌های بنیادی مزانشیمی در درمان POI ایده‌آل هستند. استفاده از تکنیک‌های جداسازی کم‌تهاجمی بوده و خارج از بحث اخلاقی نیز هستند. با این حال مطالعات بیشتری برای ارزیابی مکانیسم اثر درمانی آنها، ایجاد استاندارد برای کنترل کیفیت در کاربردهای بالینی، و ایجاد مقررات قانونی برای اطمینان از ایمنی مورد نیاز است.

### تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل مرور متن پایان نامه دانشجوی کارشناسی ارشد علوم تشریحی می‌باشد که با کد اخلاق IR.ARUMS.AEC.1400.018 در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اردبیل تصویب شده است. بدینوسیله از نویسندگان مقالات مورد استفاده در این پژوهش تقدیر و تشکر می‌گردد.

عملکرد تخمدان، تأثیر مثبت بر فولیکولوژنز، مهار آپوپتوز سلول‌های گرانولوزا و تنظیم هورمون‌های تخمدانی سبب بهبود باروری گردند؛ با این وجود برخی از مشکلات اخلاقی و فنی باید برطرف گردد [۹]. سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق شده از سلول‌های چربی، جفت یا بند ناف را می‌توان با استفاده از روش‌های کم‌تهاجمی که به اهداکننده آسیبی نمی‌رساند استخراج کرد [۲۴]. پیوند مستقیم سلول‌های بنیادی در بیماران می‌تواند تهاجمی باشد و به طور بالقوه باعث ایجاد عوارض جانبی مانند پاسخ‌های ایمنی شود. این مسائل باید در مطالعات *in vivo* بیشتر و کارآزمایی‌های بالینی ارزیابی شوند. علاوه بر این، محدودیت در طراحی مدل‌های حیوانی در حصول نتایج دقیق بر روی بیماران انسانی مهم است. با توجه به تفاوت در سیستم ایمنی بین حیوانات و انسان و بروز مشکلات ایمنی‌زایی سلول‌های بنیادی پیوندی، سلول‌های بنیادی نه تنها می‌توانند اثرات متفاوتی در هنگام پیوند به انسان داشته باشند، بلکه باعث ایجاد عوارض جانبی مانند پاسخ‌های خود ایمنی شوند [۴۰]. همچنین، نحوه تزریق سلول‌های بنیادی می‌تواند بر نتیجه پیوند سلول‌های بنیادی تأثیر بگذارد. می‌توان نتیجه گرفت که درمان با سلول‌های بنیادی تأثیر مثبتی در درمان POI دارد و تحقیقات و آزمایش‌های بالینی بیشتری برای استاندارد کردن جزئیات درمان و تعیین روش ایمن برای اعمال این فناوری در انسان مورد نیاز است. نارسایی زودرس تخمدان که سبب ناباروری می‌شود، باعث احساس غم و اندوه و افسردگی در بسیاری از زوج‌ها می‌شود. به دلیل پیچیدگی این اختلال، هنوز درمان خاصی توصیه نشده است و استفاده از درمان ترکیبی با کاهش

### References

- 1- Hansen KR, Knowlton NS, Thyer AC, Charleston JS, Soules MR, Klein NA. A new model of reproductive aging: the decline in ovarian non-growing follicle number from birth to menopause. Hum Reprod. 2008; 23(3): 699-708.

- 2- Seghinsara AM, Shoorei H, Taheri MMH, Khaki A, Shokoohi M, Tahmasebi M, et al. Panax ginseng extract improves follicular development after mouse preantral follicle 3D culture. *Cell J*. 2019; 21(2): 210-219.
- 3- Cohen J, Chabbert-Buffet N, Darai E. Diminished ovarian reserve, premature ovarian failure, poor ovarian respondera plea for universal definitions. *J Assist Reprod Genet*. 2015; 32: 1709-12.
- 4- Delkhosh A, Delashoub M, Tehrani AA, Bahrami AM, Niazi V, Shoorei H, et al. Upregulation of FSHR and PCNA by administration of coenzyme Q10 on cyclophosphamide-induced premature ovarian failure in a mouse model. *J Biochem Mol Toxicol*. 2019; 33(11): e22398.
- 5- Ghahremani-Nasab M, Ghanbari E, Jahanbani Y, Mehdizadeh A, Yousefi M. Premature ovarian failure and tissue engineering. *J Cell Physiol*. 2020; 235(5): 4217-26.
- 6- De Vos M, Devroey P, Fauser BC. Primary ovarian insufficiency. *Lancet*. 2010; 376(9744): 911-21.
- 7- Cox L, Liu JH. Primary ovarian insufficiency: an update. *Int J Womens Health*. 2014; 235-43.
- 8- Rafique S, Sterling EW, Nelson LM. A new approach to primary ovarian insufficiency. *Obstet Gynecol*. 2012; 39(4): 567-86.
- 9- Volarevic V, Bojic S, Nurkovic J, Volarevic A, Ljubic B, Arsenijevic N, et al. Stem cells as new agents for the treatment of infertility: current and future perspectives and challenges. *Biomed Res Int*. 2014;2014:507234.
- 10- Gonçalves CR, Vasconcellos AS, Rodrigues TR, Comin FV, Reis FM. Hormone therapy in women with premature ovarian insufficiency: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biomed*. 2022; 44(6):1143-57
- 11- Na J, Kim GJ. Recent trends in stem cell therapy for premature ovarian insufficiency and its therapeutic potential: a review. *J Ovarian Res*. 2020; 13(1):74.
- 12- Shafaei H, Kalarestaghi H. Adipose-derived stem cells: An appropriate selection for osteogenic differentiation. *J Cell Physiol*. 2020; 235(11): 8371-86.
- 13- Sheikhsari G, Aghebati-Maleki L, Nouri M, Jadidi-Niaragh F, Yousefi M. Current approaches for the treatment of premature ovarian failure with stem cell therapy. *Biomed Pharmacother*. 2018; 102: 254-62.
- 14- Ciccocioppo R, Cantore A, Chaimov D, Orlando G. Regenerative medicine: the red planet for clinicians. *Intern Emerg Med*. 2019; 14(6):911-921.
- 15- Samsonraj RM, Raghunath M, Nurcombe V, Hui JH, van Wijnen AJ, Cool SM. Concise review: multifaceted characterization of human mesenchymal stem cells for use in regenerative medicine. *Stem Cells Transl Med*. 2017; 6(12): 2173-85.
- 16- Petersen B, Bowen W, Patrene K, Mars W, Sullivan A, Murase Na, et al. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science*. 1999; 284(5417):1168-70.
- 17- Shah JS, Sabouni R, Cayton Vaught KC, Owen CM, Albertini DF, Segars JH. Biomechanics and mechanical signaling in the ovary: a systematic review. *J Assist Reprod Genet*. 2018; 35:1135-48.
- 18- Feng P, Li P, Tan J. Human menstrual blood-derived stromal cells promote recovery of premature ovarian insufficiency via regulating the ECM-dependent FAK/AKT signaling. *Stem Cell Rev Rep*. 2019;15: 241-55.
- 19- Grady ST, Watts AE, Thompson JA, Penedo MCT, Konganti K, Hinrichs K. Effect of intra-ovarian injection of mesenchymal stem cells in aged mares. *J Assist Reprod Genet*. 2019; 36: 543-56.
- 20- Badawy A, Sobh MA, Ahdy M, Abdelhafez MS. Bone marrow mesenchymal stem cell repair of cyclophosphamide-induced ovarian insufficiency in a mouse model. *Int J Womens Health*. 2017; 15(9): 441-447
- 21- Pan Y, Zhang L, Zhang X, Hu C, Liu R. Biological and biomechanical analysis of two types of mesenchymal stem cells for intervention in chemotherapy-induced ovarian dysfunction. *Arch Gynecol Obstet*. 2017; 295(1):247-252.
- 22- Chronowska E. Stem cell characteristics of ovarian granulosa cells-review. *Ann Anim Sci*. 2012; 12(2):151-7.
- 23- Wang W-C, Lai Y-C. Molecular pathogenesis in granulosa cell tumor is not only due to somatic FOXL2 mutation. *J Ovarian Res*. 2014; 7: 88.

- 24- Wang J, Liu W, Yu D, Yang Z, Li S, Sun X. Research progress on the treatment of premature ovarian failure using mesenchymal stem cells: a literature review. *Front Cell Dev Biol.* 2021; 9: 749822.
- 25- Bedoschi G, Navarro PA, Oktay K. Chemotherapy-induced damage to ovary: mechanisms and clinical impact. *Future Oncol.* 2016; 12(19): 2333-44.
- 26- Ling L, Feng X, Wei T, Wang Y, Wang Y, Wang Z, et al. Human amnion-derived mesenchymal stem cell (hAD-MSC) transplantation improves ovarian function in rats with premature ovarian insufficiency (POI) at least partly through a paracrine mechanism. *Stem Cell Res Ther.* 2019; 25: 10(1): 46-55.
- 27- Ling L, Feng X, Wei T, Wang Y, Wang Y, Zhang W, et al. Effects of low-intensity pulsed ultrasound (LIPUS)-pretreated human amnion-derived mesenchymal stem cell (hAD-MSC) transplantation on primary ovarian insufficiency in rats. *Stem Cell Res Ther.* 2017; 8(1): 283.
- 28- Xia X, Yin T, Yan J, Yan L, Jin C, Lu C, et al. Mesenchymal stem cells enhance angiogenesis and follicle survival in human cryopreserved ovarian cortex transplantation. *Cell Transplant.* 2015; 24(10): 1999-2010.
- 29- Wang M-Y, Wang Y-X, Li-Ling J, Xie H-Q. Adult stem cell therapy for premature ovarian failure: from bench to bedside. *Tissue Eng Part B Rev.* 2022; 28(1): 63-78.
- 30- Baerwald AR, Adams GP, Pierson RA. Ovarian antral folliculogenesis during the human menstrual cycle: a review. *Hum Reprod Update.* 2012; 18(1):73-91.
- 31- Shokoohi M, Soltani M, Abtahi-Eivary S-H, Niazi V, Poor MJR, Ravaei H, et al. Effect of hydro-alcoholic extract of *Olea europaea* on apoptosis-related genes and oxidative stress in a rat model of torsion/detorsion-induced ovarian damage. *Asian Pac J Reprod.* 2019; 8(4): 148-56.
- 32- Zhang H, Risal S, Gorre N, Busayavalasa K, Li X, Shen Y, et al. Somatic cells initiate primordial follicle activation and govern the development of dormant oocytes in mice. *Curr Biol.* 2014; 24(21): 2501-8.
- 33- Macklon N, Fauser B. Aspects of ovarian follicle development throughout life. *Horm Res Paediatr.* 1999; 52(4): 161-70.
- 34- Nelson L. NIH public access-primary ovarian insufficiency. *N Engl J Med.* 2009; 360(6): 606-14.
- 35- De Vos M, Devroey P, Fauser Bc. Primary Ovarian Insufficiency. *Lancet.* 2010; 376: 911-21.
- 36- Stearns V, Schneider B, Henry NL, Hayes DF, Flockhart DA. Breast cancer treatment and ovarian failure: risk factors and emerging genetic determinants. *Nat Rev Cancer.* 2006; 6(11): 886-93.
- 37- van Kasteren YM, Schoemaker J. Premature ovarian failure: a systematic review on therapeutic interventions to restore ovarian function and achieve pregnancy. *Hum Reprod Update.* 1999; 5(5): 483-92.
- 38- Deniz G, Antoine C, Liebens F, Carly B, Pastijn A, Rozenberg S. Treatment of premature menopause in breast cancer patients. *Acta Chir Belg.* 2007; 107(3): 263-6.
- 39- Nappi RE, Cassani C, Rossi M, Zanellini F, Spinillo A. Dealing with premature menopause in women at high-risk for hereditary genital and breast cancer. *Minerva Ginecol.* 2016; 68(5): 602-12.
- 40- Bacakova L, Zarubova J, Travnickova M, Musilkova J, Pajorova J, Slepicka P, et al. Stem cells: their source, potency and use in regenerative therapies with focus on adipose-derived stem cells—a review. *Biotechnol Adv.* 2018; 36(4):1111-26.
- 41- Fu X-f, He Y-l, Xie C-h, Liu W. Bone marrow mesenchymal stem cell transplantation improves ovarian function and structure in rats with chemotherapy-induced ovarian damage. *Cytotherapy.* 2008; 10(4):353-63.
- 42- Kilic S, Pinarli F, Ozogul C, Tasdemir N, Naz Sarac G, Delibasi T. Protection from cyclophosphamide-induced ovarian damage with bone marrow-derived mesenchymal stem cells during puberty. *Gynecol Endocrinol.* 2014; 30(2):135-40.
- 43- Liu J, Zhang H, Zhang Y, Li N, Wen Y, Cao F, et al. Homing and restorative effects of bone marrow-derived mesenchymal stem cells on cisplatin injured ovaries in rats. *Mol Cells.* 2014; 37(12):865-72.
- 44- Mohamed SA, Shalaby SM, Abdelaziz M, Brakta S, Hill WD, Ismail N, et al. Human mesenchymal stem cells partially reverse infertility in chemotherapy-induced ovarian failure. *Reprod Sci.* 2018; 25(1):51-63.



- 45- Park H-S, Ashour D, Elsharoud A, Chugh RM, Ismail N, Andaloussi AE, et al. Towards cell free therapy of premature ovarian insufficiency: human bone marrow mesenchymal stem cells secretome enhances angiogenesis in human ovarian microvascular endothelial cells. *HSOA J Stem Cells Res Dev Ther*. 2019;5(2):019.
- 46- Gupta S, Lodha P, Karthick MS, Tandulwadkar SR. Role of autologous bone marrow-derived stem cell therapy for follicular recruitment in premature ovarian insufficiency: Review of literature and a case report of world's first baby with ovarian autologous stem cell therapy in a perimenopausal woman of age 45 year. *Hum Reprod Sci*. 2018; 11(2):125-130.
- 47- Gabr H, Elkheir W, El-Gazzar A. Autologous stem cell transplantation in patients with idiopathic premature ovarian failure. *J Tissue Eng*. 2016; 7(3):27-33.
- 48- Edessy M, Hosni HN, Shady Y, Waf Y, Bakr S, Kamel M. Autologous stem cells therapy, the first baby of idiopathic premature ovarian failure. *Acta Med*. 2016; 3(1):19-23.
- 49- Herraiz S, Romeu M, Buigues A, Martínez S, Díaz-García C, Gómez-Seguí I, et al. Autologous stem cell ovarian transplantation to increase reproductive potential in patients who are poor responders. *Fertil Steril*. 2018; 110(3):496-506.
- 50- Neri S, Bourin P, Peyrafitte J-A, Cattini L, Facchini A, Mariani E. Human adipose stromal cells (ASC) for the regeneration of injured cartilage display genetic stability after in vitro culture expansion. *PLoS One*. 2013; 8(10):e77895.
- 51- Shi D, Liao L, Zhang B, Liu R, Dou X, Li J, et al. Human adipose tissue– derived mesenchymal stem cells facilitate the immunosuppressive effect of cyclosporin A on T lymphocytes through Jagged-1– mediated inhibition of NF- $\kappa$ B signaling. *Exp Hematol*. 2011; 39(2):214-24.
- 52- Xue C, Shen Y, Li X, Li B, Zhao S, Gu J, et al. Exosomes derived from hypoxia-treated human adipose mesenchymal stem cells enhance angiogenesis through the PKA signaling pathway. *Exp Hematol*. 2018; 27(7):456-65.
- 53- Huang B, Lu J, Ding C, Zou Q, Wang W, Li H. Exosomes derived from human adipose mesenchymal stem cells improve ovary function of premature ovarian insufficiency by targeting SMAD. *Stem Cell Res Ther*. 2018; 9(1):216.
- 54- Song K, Cai H, Zhang D, Huang R, Sun D, He Y. Effects of human adipose-derived mesenchymal stem cells combined with estrogen on regulatory T cells in patients with premature ovarian insufficiency. *Int Immunopharmacol*. 2018; 55:257-62.
- 55- Vural B, Duruksu G, Vural F, Gorguc M, Karaoz E. Effects of VEGF+ mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma on inbred rat ovarian functions in cyclophosphamide-induced premature ovarian insufficiency model. *Stem Cell Rev Rep*. 2019; 15(4):558-73.
- 56- Mashayekhi M, Mirzadeh E, Chekini Z, Ahmadi F, Eftekhari-Yazdi P, Vesali S, et al. Evaluation of safety, feasibility and efficacy of intra-ovarian transplantation of autologous adipose derived mesenchymal stromal cells in idiopathic premature ovarian failure patients: Non-randomized clinical trial, phase I, first in human. *J Ovarian Res*. 2021;14(1):5.
- 57- Liu R, Zhang X, Fan Z, Wang Y, Yao G, Wan X, et al. Human amniotic mesenchymal stem cells improve the follicular microenvironment to recover ovarian function in premature ovarian failure mice. *Stem Cell Res Ther*. 2019; 10(1):299.
- 58- Wu Q, Fang T, Lang H, Chen M, Shi P, Pang X, et al. Comparison of the proliferation, migration and angiogenic properties of human amniotic epithelial and mesenchymal stem cells and their effects on endothelial cells. *Int J Mol Med*. 2017; 39(4):918-26.
- 59- Zhang Q, Bu S, Sun J, Xu M, Yao X, He K, et al. Paracrine effects of human amniotic epithelial cells protect against chemotherapy-induced ovarian damage. *Stem Cell Res Ther*. 2017;8(1):270.
- 60- Fu Y-X, Ji J, Shan F, Li J, Hu R. Human mesenchymal stem cell treatment of premature ovarian failure: new challenges and opportunities. *Stem Cell Res Ther*. 2021; 12(1):161.
- 61- Ghasemzadeh M, Hosseini E, Ahmadi M, Kamalizad M, Amirizadeh N. Comparable osteogenic capacity of mesenchymal stem or stromal cells derived from human amnion membrane and bone marrow. *Cytotechnology*. 2018; 70:729-39.



- 62- Li Y, Liu Z, Jin Y, Zhu X, Wang S, Yang J, et al. Differentiation of human amniotic mesenchymal stem cells into human anterior cruciate ligament fibroblast cells by in vitro coculture. *Biomed Res Int*. 2017;2017:7360354.
- 63- Karahuseyinoglu S, Cinar O, Kilic E, Kara F, Akay GG, Demiralp DÖ, et al. Biology of stem cells in human umbilical cord stroma: in situ and in vitro surveys. *Stem Cells*. 2007; 25(2):319-31.
- 64- Miraki S, Rashidi A, Banafshi O, Alasvand M, Fathi F, Golmohammadi MG. Effects of embryonic stem cell-conditioned medium on the preimplantation development of mouse embryos. *Zygote*. 2022; 30(4):464-70.
- 65- Ranjbaran H, Abediankenari S, Mohammadi M, Jafari N, Khalilian A, Rahmani Z, et al. Wharton's jelly derived-mesenchymal stem cells: Isolation and characterization. *Acta Med Iran*. 2018; 56(1):28-33.
- 66- Meng X, Ichim TE, Zhong J, Rogers A, Yin Z, Jackson J, et al. Endometrial regenerative cells: a novel stem cell population. *J Transl Med*. 2007; 5:57.
- 67- Cui C-H, Uyama T, Miyado K, Terai M, Kyo S, Kiyono T, et al. Menstrual blood-derived cells confer human dystrophin expression in the murine model of Duchenne muscular dystrophy via cell fusion and myogenic transdifferentiation. *Mol Biol Cell*. 2007; 18(5):1586-94.
- 68- Lai D, Guo Y, Zhang Q, Chen Y, Xiang C. Differentiation of human menstrual blood-derived endometrial mesenchymal stem cells into oocyte-like cells. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2016; 48(11):998-1005.
- 69- Wang Z, Wang Y, Yang T, Li J, Yang X. Study of the reparative effects of menstrual-derived stem cells on premature ovarian failure in mice. *Stem Cell Res Ther*. 2017; 8:11-18.