

## Uso de Células-Tronco Mesenquimais na Andrologia Animal

### *Mesenchymal Stem Cells in Animal Andrology*

Patricia Furtado Malard<sup>1,2</sup>, Mauricio Peixer<sup>2,3</sup>, Hilana Sena Brunel<sup>1</sup>

<sup>1</sup>BIO CELL- Terapia Celular Ltda

<sup>2</sup>Universidade Católica de Brasília- UCB

<sup>3</sup>BIO- Biotecnologia em Reprodução Animal Ltda

E-mail: patricia@biocell.com.br

### Resumo

O uso de células-tronco mesenquimais (CTMs) tem emergido como uma estratégia inovadora na andrologia animal, especialmente no contexto da infertilidade, uma condição multifatorial frequentemente associada a danos ao microambiente testicular. Evidências recentes indicam que os efeitos terapêuticos das CTMs são predominantemente mediados por mecanismos parácrinos, envolvendo a secreção de vesículas extracelulares e fatores bioativos capazes de modular inflamação, estresse oxidativo e apoptose celular. Estudos experimentais demonstram recuperação parcial da espermatogênese em modelos de azoospermia, bem como melhora da função endócrina testicular. Além disso, aplicações em criopreservação e biotecnologias reprodutivas têm mostrado resultados promissores. No entanto, desafios relacionados à padronização, fonte celular e segurança limitam sua translação clínica. Esta revisão discute criticamente os mecanismos, aplicações e perspectivas futuras das CTMs na andrologia.

**Palavras-chave:** Células-tronco mesenquimais, andrologia, infertilidade, biotecnologia animal

### Abstract

*Mesenchymal stem cells (MSCs) have emerged as a promising therapeutic strategy in animal andrology, particularly in the context of infertility, a multifactorial condition often associated with testicular microenvironment disruption. Recent evidence indicates that MSC therapeutic effects are predominantly mediated through paracrine mechanisms, involving extracellular vesicles and bioactive factors capable of modulating inflammation, oxidative stress, and apoptosis. Experimental studies have demonstrated partial restoration of spermatogenesis in azoospermia models, as well as improvements in testicular endocrine function. Additionally, applications in cryopreservation and reproductive biotechnologies have shown promising outcomes. However, challenges related to standardization, cell source, and long-term safety still limit clinical translation. This review critically discusses the mechanisms, applications, and future perspectives of MSCs in andrology.*

**Keywords:** *Mesenchymal stem cell, andrology, infertility, animal biotechnology*

### Introdução

A infertilidade masculina representa um desafio crescente tanto na medicina humana quanto veterinária, com impacto direto na saúde reprodutiva e na produtividade animal. Estima-se que uma parcela significativa dos casos esteja associada a alterações estruturais e funcionais no microambiente testicular, comprometendo a espermatogênese e a função das células de suporte (Irani et al., 2024).

Embora abordagens convencionais, como terapias hormonais e técnicas de reprodução assistida, possam oferecer suporte clínico, elas não atuam diretamente na regeneração do tecido testicular. Nesse contexto, as células-tronco mesenquimais (CTMs) têm ganhado destaque como uma alternativa regenerativa promissora (Gauthier-Fisher et al., 2020).

Nos últimos anos, houve uma mudança conceitual importante: o efeito terapêutico das CTMs passou a ser atribuído predominantemente ao seu secretoma, e não à diferenciação celular direta. Esse paradigma tem sido sustentado por estudos que demonstram a relevância das vesículas extracelulares na modulação do nicho testicular (Wang et al., 2025).

## Mecanismos de ação das CTMs

Diversos tipos de células-tronco têm sido investigados no contexto da infertilidade masculina, incluindo células-tronco espermatogoniais (SSCs), células-tronco embrionárias (ESCs), células-tronco pluripotentes induzidas (iPSCs) e células-tronco mesenquimais (MSCs). As SSCs representam a base fisiológica da espermatogênese e são essenciais para a manutenção da fertilidade; no entanto, sua aplicação clínica ainda é limitada por desafios técnicos, como isolamento, expansão e criopreservação. As ESCs e iPSCs apresentam elevada plasticidade e capacidade de diferenciação em células da linhagem germinativa, sendo consideradas ferramentas promissoras para a geração de gametas *in vitro*. Entretanto, essas células enfrentam importantes limitações, incluindo questões éticas (no caso das ESCs), risco de formação tumoral e dificuldades em reproduzir fielmente a diferenciação germinativa completa. Assim, embora diferentes tipos de células-tronco apresentem potencial terapêutico, as CTMs atualmente se destacam como a alternativa mais viável para aplicação clínica, enquanto SSCs, ESCs e iPSCs ainda enfrentam limitações que restringem seu uso na prática clínica (Irani et al., 2024).

Apesar das células-tronco mesenquimais (CTMs) apresentarem reconhecido potencial regenerativo, evidências acumuladas indicam que sua contribuição para a restauração da espermatogênese ocorre predominantemente por mecanismos indiretos, e não por diferenciação em células germinativas. Nesse contexto, o papel das CTMs está mais relacionado à modulação do microambiente testicular, promovendo redução da inflamação, do estresse oxidativo e da apoptose, além de favorecer a sobrevivência e proliferação das células-tronco espermatogoniais residentes. Essa função de suporte é reforçada por estudos que demonstram aumento da eficiência de colonização de células germinativas quando co-transplantadas com CTMs, sugerindo que essas células atuam como facilitadoras do nicho espermatogonial, e não como substitutas da linhagem germinativa (Kadam et al., 2017).

Dessa forma, embora as CTMs não apresentem capacidade comprovada de diferenciação direta em espermatozoides, sua relevância terapêutica reside na modulação do nicho testicular e no suporte à regeneração endógena. Esse entendimento tem direcionado o desenvolvimento de abordagens mais seguras e translacionais, incluindo o uso de secretoma e vesículas extracelulares como alternativas acelulares na medicina reprodutiva (Wang et al., 2025).

Os efeitos biológicos das CTMs são complexos e multifatoriais, envolvendo interação dinâmica com o microambiente tecidual. A secreção de fatores como VEGF, IGF-1 e TGF- $\beta$  contribui para angiogênese, sobrevivência celular e modulação inflamatória (Guo et al., 2025). Evidências recentes indicam que os exossomos desempenham papel central nesse processo. Essas vesículas atuam como mediadores intercelulares, transportando microRNAs que regulam vias críticas relacionadas à apoptose e proliferação celular (Wang et al., 2025).

Além disso, as CTMs exercem potente efeito imunomodulador, reduzindo a expressão de citocinas pró-inflamatórias e promovendo um ambiente permissivo à regeneração (Gauthier-Fisher et al., 2020).

Apesar desses avanços, ainda há lacunas importantes no entendimento da interação entre CTMs e o nicho espermatogonial, especialmente no que diz respeito à duração e estabilidade desses efeitos.

## Restauração da espermatogênese: segurança, evidências e limitações

A aplicação de CTMs na restauração da espermatogênese tem sido amplamente investigada, especialmente em modelos de azoospermia não obstrutiva. Revisões sistemáticas indicam que essas células são capazes de reconstruir parcialmente o nicho das células-tronco espermatogoniais (Zhankina et al., 2021).

No entanto, estudos experimentais demonstram que a recuperação é frequentemente parcial, sugerindo que a regeneração completa do epitélio seminífero ainda representa um desafio (Zhang et al., 2014).

Além disso, permanece controverso se as CTMs contribuem diretamente para a linhagem germinativa ou se seu papel é exclusivamente de suporte. Estratégias combinadas, como co-transplantação com células-tronco espermatogoniais, têm mostrado resultados superiores, indicando um efeito sinérgico (Kadam et al., 2017).

Na reprodução animal, especialmente em bovinos, a aplicação de CTMs possui relevância econômica significativa. Estudos indicam que essas células promovem regeneração tecidual e melhoram a eficiência reprodutiva por meio da modulação do ambiente gonadal (Prabowo et al., 2025).

Em estudo experimental conduzido em equinos, Papa et al. (2020) avaliaram a segurança da aplicação intratesticular de células-tronco mesenquimais alogênicas derivadas da medula óssea em gananhões saudáveis. No experimento, 24 animais foram divididos em grupo tratado e controle, sendo realizada a aplicação intratesticular de células-tronco no grupo tratamento, enquanto o grupo controle

recebeu apenas solução tampão (PBS). Foram avaliados parâmetros clínicos, incluindo volume testicular, temperatura superficial e fluxo sanguíneo por ultrassonografia Doppler, além de análise histológica após 15 dias. Em um segundo experimento, três garanhões férteis receberam o mesmo tratamento e foram acompanhados por 60 dias com avaliações seminais semanais e teste de fertilidade por inseminação artificial. Os resultados demonstraram ausência de sinais de inflamação aguda ou crônica, bem como ausência de alterações nos parâmetros espermáticos. Além disso, foi observada taxa de fertilidade satisfatória (83%) após inseminação artificial, indicando que a aplicação intratesticular de células-tronco mesenquimais é um procedimento seguro e não compromete a função reprodutiva, reforçando seu potencial como estratégia terapêutica para afecções testiculares (Papa et al., 2020).

Além disso, a capacidade das CTMs de favorecer a colonização de células germinativas em transplantes alogênicos abre novas perspectivas para programas de melhoramento genético. Em estudo experimental realizado em bovinos, foram utilizados touros jovens com aproximadamente 8 meses de idade ( $n = 3-5$  por grupo), nos quais células-tronco mesenquimais foram transplantadas diretamente nos túbulos seminíferos em diferentes concentrações, variando entre  $1 \times 10^7$  e  $4 \times 10^7$  células por testículo. Os resultados demonstraram que essas células apresentam capacidade de sobreviver, migrar e colonizar o tecido testicular após a aplicação intratesticular, sendo esse efeito dependente da dose, com maior eficiência observada nas concentrações mais elevadas ( $2 \times 10^7$  células). Apesar da capacidade de integração ao microambiente testicular, as células-tronco mesenquimais apresentaram eficiência inferior quando comparadas às células-tronco espermatogoniais, sugerindo que seu principal papel não está na substituição direta das células germinativas, mas sim na modulação do nicho testicular e no suporte à regeneração tecidual (Segunda et al., 2024).

Entretanto, a variabilidade nos protocolos experimentais ainda limita a reprodutibilidade dos resultados, sendo necessária maior padronização metodológica.

### **Criopreservação e qualidade seminal**

A criopreservação espermática é amplamente utilizada, mas apresenta limitações significativas relacionadas ao estresse oxidativo.

Um estudo avaliou o efeito da adição de células-tronco mesenquimais derivadas de tecido adiposo (Ad-MSCs) na criopreservação de sêmen canino. Foram utilizados ejaculados de quatro cães saudáveis, os quais foram processados e divididos em três grupos: controle (sem células), grupo com  $2,5 \times 10^6$  Ad-MSCs/mL e grupo com  $5 \times 10^6$  Ad-MSCs/mL. Após o congelamento e descongelamento, foram analisados parâmetros espermáticos como motilidade, viabilidade, integridade de membrana, integridade acrossomal e integridade do DNA. Os resultados demonstraram que a adição de Ad-MSCs na concentração de  $2,5 \times 10^6$  células/mL promoveu melhora significativa em todos os parâmetros avaliados, incluindo maior motilidade pós-descongelamento, maior viabilidade e melhor integridade de membrana e cromatina em comparação ao grupo controle (QAMAR et al., 2020).

Esses achados sugerem que as CTMs podem atuar como bioaditivos funcionais em protocolos de conservação seminal, embora ainda sejam necessários estudos para padronização de dose e forma de aplicação.

Em um outro estudo, ao invés da aplicação direta de células-tronco mesenquimais, foram utilizados exossomos derivados dessas células como estratégia alternativa para melhorar a qualidade espermática durante a criopreservação. Nesse experimento, ejaculados de quatro cães foram tratados com diferentes concentrações de proteínas exossomais (25, 50 e 100  $\mu\text{g/mL}$ ), sendo identificada como ideal a concentração de 50  $\mu\text{g/mL}$ . Após o processo de congelamento e descongelamento, os espermatozoides tratados apresentaram melhora significativa na motilidade, viabilidade, integridade de membrana plasmática e acrossomal, além de maior capacidade de penetração em muco e melhor integridade da cromatina quando comparados ao grupo controle. Adicionalmente, foi observado aumento na expressão de genes relacionados à reparação celular e redução de marcadores associados ao estresse oxidativo, indicando que os efeitos benéficos são mediados por mecanismos parácrinos. Esses achados reforçam que, mesmo na ausência das células-tronco propriamente ditas, seus produtos secretados, como os exossomos, são capazes de exercer efeitos protetores e regenerativos sobre os espermatozoides (QAMAR et al., 2019).

Portanto, a incorporação de CTMs ou seus exossomos tem demonstrado reduzir os danos causados pela criopreservação, melhorando parâmetros como motilidade e integridade de membrana (Qamar et al., 2020; Qamar et al., 2019).

### **Ação das CTMs nas glândulas sexuais acessórias**

Embora o uso de células-tronco mesenquimais (CTMs) tenha sido investigado na regeneração

testicular, especialmente em modelos de azoospermia, sua aplicação em glândulas sexuais acessórias ainda é limitada na literatura. Em um estudo recente conduzido por Severo et al. (2025), foi avaliada a eficácia da administração intraglandular de células-tronco mesenquimais alogênicas no tratamento de vesiculite seminal crônica em touros. Foram utilizados 12 animais com histórico de recorrência da doença, diagnosticados por exames clínicos, citológicos e ultrassonográficos. As células-tronco foram aplicadas bilateralmente diretamente nas glândulas vesiculares, na dose de  $3 \times 10^6$  células por glândula. Os resultados demonstraram melhora significativa nos parâmetros seminais, incluindo aumento da motilidade espermática inicial e pós-descongelamento, além de incremento expressivo na produção de doses por ejaculado. Observou-se também redução completa da presença de leucócitos, indicando resolução do processo inflamatório. Os achados sugerem que a terapia com células-tronco mesenquimais promove recuperação funcional das glândulas vesiculares, possivelmente por meio de seus efeitos imunomoduladores e regenerativos, configurando-se como uma abordagem segura e eficaz para o tratamento de afecções reprodutivas em bovinos (Severo et al., 2025).

### Função endócrina e senescência celular

A deterioração da função das células de Leydig é um fator crítico no envelhecimento reprodutivo. Estudos recentes demonstram que as CTMs podem restaurar parcialmente a produção de testosterona, contribuindo para a recuperação da função endócrina (Zhu et al., 2025).

Além disso, exossomos derivados de CTMs têm mostrado capacidade de reverter alterações associadas ao envelhecimento testicular, incluindo melhora estrutural e funcional (Luo et al., 2024).

Esses resultados ampliam o escopo de aplicação das CTMs, posicionando-as não apenas como ferramentas de fertilidade, mas também de saúde sistêmica.

### Considerações finais e perspectivas futuras

As células-tronco mesenquimais representam uma abordagem altamente promissora na andrologia, com aplicações que vão desde a regeneração da espermatogênese até a modulação da função endócrina e melhoria da qualidade seminal.

Contudo, a transição para a prática clínica ainda enfrenta desafios significativos, incluindo padronização de protocolos, definição da melhor fonte celular e avaliação de segurança a longo prazo (Liu et al., 2020).

O futuro da área aponta para terapias acelulares baseadas em exossomos, que oferecem vantagens em termos de segurança, armazenamento e reprodutibilidade. O aprofundamento no entendimento dos mecanismos moleculares envolvidos será essencial para o desenvolvimento de terapias personalizadas e eficazes (Wang et al., 2025).

### Referências

- Gauthier-fisher A, et al.** Potential use of stem cells for fertility preservation. *Andrology*, v.8, n.4, p.862-878, 2020.
- Guo X, et al.** Research on the mechanism of human umbilical cord mesenchymal stem cells and their extracellular vesicles in the treatment of common reproductive diseases. *Stem Cell Research & Therapy*, v.16, n.1, p.654, 2025.
- Irani D, et al.** Mesenchymal Stem Cells in Regenerative Medicine, Possible Applications in The Restoration of Spermatogenesis: A Review. *Cell Journal (Yakhteh)*, v.26, n.3, p.169-184, 2024.
- Kadam P. et al.** Can mesenchymal stem cells improve spermatogonial stem cell transplantation efficiency? *Andrology*, v.5, n.1, p.2-9, 2017.
- Liu H-C, et al.** Stem cell-based therapies for fertility preservation in males: Current status and future prospects. *World Journal of Stem Cells*, v.12, n.10, p.1097-1112, 2020.
- Luo P, et al.** Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes Rescue Testicular Aging. *Biomedicines*, v.12, n.1, 98, 2024.
- Papa PM, et al.** Clinical safety of intratesticular transplantation of allogeneic bone marrow multipotent stromal cells in stallions. *Reproduction in Domestic Animals*, [S.l.], v.55, n.4, p.429-437, 2020. DOI: 10.1111/rda.13624.
- Prabowo TA, et al.** Mesenchymal stem cell therapy in bovine reproduction: Mechanistic insights, clinical applications, and translational challenges. *Veterinary World*, v. 18, p. 2888-2899, 2025.
- Qamar AY, et al.** Improved Post-Thaw Quality of Canine Semen after Treatment with Exosomes from

- Conditioned Medium of Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells. *Animals*, v.9, n.10, 865, 2019.
- Qamar AY., et al.** Improved viability and fertility of frozen-thawed dog sperm using adipose-derived mesenchymal stem cells. *Scientific Reports*, v.10, n.1, 7034, 2020.
- Segunda MN., et al.** Potential of mesenchymal stromal/stem cells and spermatogonial stem cells for survival and colonization in bull recipient testes after allogenic transplantation. *Theriogenology*, v.230, p.192-202, 2024.
- Severo NC., et al.** Effectiveness of intraglandular allogeneic mesenchymal stem cell administration for treating chronic vesicular adenitis in bulls. *Theriogenology*, [S.l.], v.241, p.117419, 2025. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2025.117419.
- Wang Y., et al.** Mechanisms and applications of mesenchymal stem cell exosomes in enhancing fertility. *Stem Cell Research & Therapy*, v.16, n.588, 2025.
- Zhankina R., et al.** Mesenchymal stromal/stem cells and their exosomes for restoration of spermatogenesis in non-obstructive azoospermia: a systemic review. *Stem Cell Research & Therapy*, v.12, p.229, 2021.
- Zhang D, et al.** Potential Spermatogenesis Recovery with Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells in an Azoospermic Rat Model. *International Journal of Molecular Sciences*, v.15, n.8, p.13151-13165, 2014.
- Zhu, WB, et al.** The effects of testicular aging on Leydig cells and the application of stem cells in restoring Leydig cells function. *Reproductive Biology and Endocrinology*, v.23, n.147, 2025.
-