



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLAN

LAS CELULAS DE SERTOLI EN EL FUNCIONAMIENTO  
TESTICULAR DE LOS PEQUEÑOS RUMIANTES  
(REVISION BIBLIOGRAFICA)

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

**MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**P R E S E N T A :**

**ENRIQUE GOMEZ NARANJO**

ASESOR: M.C. ARTURO ANGEL TREJO GONZALEZ

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEXICO.

2005

m 344913



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN  
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

U. N. A. M.  
FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES CUAUTITLAN



DEPARTAMENTO DE  
EXAMENES PROFESIONALES

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN  
P R E S E N T E

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares  
Jefe del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

Las Células de Sertoli en el Funcionamiento Testicular  
de los Pequeños Ruminantes (Revisión Bibliográfica)

que presenta el pasante: Enrique Gómez Naranjo  
con número de cuenta: 9156769-9 para obtener el título de :  
Médico Veterinario Zootecnista

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

**A T E N T A M E N T E**  
**"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"**

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 21 de octubre de 2004.

PRESIDENTE	<u>Dr. Fernando Osnaya Gallardo</u>	
VOCAL	<u>M.C. Arturo Angel Trejo González</u>	
SECRETARIO	<u>MVZ. Arturo Carmona Ocañas</u>	
PRIMER SUPLENTE	<u>M.C. Crisóforo Mercado Márquez</u>	
SEGUNDO SUPLENTE	<u>MVZ. Ranulfo Reyes Gama</u>	

## DEDICATORIAS

A Dios, que me permitió tener una oportunidad más de vivir para ver crecer a mis hijos y culminar éste importante objetivo.

A mis hijos, Melissa y Luís que me dan la energía para seguir luchando contra las adversidades que se me presentan en la vida.

A mi esposa Isabel, que me da aliento en todo momento y es el pilar de mi ser, te amo.

A mis padres, por darme la paciencia y el apoyo incondicional en todas las decisiones de mi vida, buenas o malas, sabiendo que éstas me servirían para llegar a cumplir éste sueño, mi titulación profesional.

A mis hermanos, por ser también un gran apoyo en mis decisiones.

A mis suegros, que tienen un gran corazón para cuidar de mi familia.

## AGRADECIMIENTOS

A los doctores Mario Velasco, Ricardo Parra y Arturo Trejo que me comparten sus conocimientos y experiencias para ser mejor profesionalista y ser humano.

A todos los animales que me permitieron obtener los conocimientos necesarios durante mi estancia en la Facultad y a aquellos que veo a diario porque sin ellos no tendríamos razón de ser.

## INDICE

	<b>PAGINA</b>
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. EL TESTICULO	
1. Generalidades.....	2
III. LOS TUBULOS SEMINIFEROS.....	5
IV. ESPERMATOGENESIS	
1. Generalidades.....	6
2. Regulación Hormonal.....	7
a) Andrógenos y Gonadotropinas.....	7
b) Estrógenos.....	9
c) Hormona Tiroidea y Hormona del Crecimiento.....	9
d) Prolactina.....	10
e) Oxitocina.....	10
f) Insulina.....	10
V. LA CELULA DE SERTOLI (Epiteliocito Sustentacular)	
1. Definición.....	11
2. Origen.....	11
3. Rasgos Estructurales.....	14
a) El Núcleo.....	15
b) El Citoplasma.....	16
4. Técnicas de Estudio.....	20
5. Fisiología.....	20
6. Barrera Hemato-Testicular.....	22
7. Regulación Celular.....	24
a) Uniones Herméticas (TJ-Tight Junction).....	25
- Regulación de las dinámicas de la TJ.....	25
- Funciones de la TJ.....	27
- Componentes Moleculares.....	28
- Interacciones Moleculares.....	31
b) Uniones de Anclaje (AJ-Adhering o Anchoring Junctions).....	32
- Funciones de las AJ.....	32
- Proteínas de las AJ.....	32
- Moléculas asociadas a las AJ.....	33
- Otras moléculas.....	34
- Hemidesmosoma.....	34
- Union Gap, Desmosoma.....	35
- Complejo Tubulobulbar.....	35
- Especialización Ectoplásmica (ES).....	37
- Procesos Penetrantes.....	37
- Regulación de las dinámicas de AJ.....	38

8. Regulación Humoral	
a) Secreción de líquidos.....	40
b) Hormona anti-Mulleriana (AMH).....	43
c) Proteína ligadora de andrógeno (ABP).....	44
d) Esteroides.....	45
e) Inhibinas, Activinas y Folistatina.....	45
f) Estrógenos.....	47
g) Proteínas reguladoras de las células de Leydig (LCSF)...	48
h) Enzimas.....	48
i) SCF/c-kit.....	50
j) Antígeno H-Y.....	50
k) Substratos metabólicos.....	50
l) Lípidos.....	51
m) Fosfodiesterasas (PDEs).....	51
n) Vitaminas (A, E, D).....	53
ñ) Zinc.....	53
o) Calmodulina ( $Ca^{2+}$ ).....	53
p) Testibumina (CMB-1).....	54
q) Proteínas ligadoras de metal.....	54
r) Clusterina.....	54
s) Interleucina-I.....	54
t) Factores de Crecimiento.....	55
u) CREB/CREM.....	56
v) Metaloproteinasas de la Matriz (MMPs).....	56
w) Dinaminas.....	57
9. Regulación Hormonal.....	57
10. Variación de las actividades de la célula de Sertoli en relación al ciclo seminífero de la rata.....	59
11. Patología de la célula de Sertoli.....	60
VI. CONSIDERACIONES FINALES DEL OVINO Y DEL CAPRINO.....	61
VII. COROLARIO.....	63
VIII. BIBLIOGRAFÍA CITADA.....	65

## I. INTRODUCCIÓN

La investigación sobre la morfología descriptiva y fisiología endocrina han dado origen a un importante principio fundamental, el logro de la espermatogénesis en vertebrados superiores requiere de las funciones de las células de Sertoli (epiteliocitos sustentculares). La determinación de exactamente qué propiedades o funciones de las células de Sertoli son críticas en la espermatogénesis ha sido el mayor objetivo en la investigación sobre éste tema. Las células de Sertoli pueden influenciar la espermatogénesis por estar involucradas directamente en la formación del testículo y para regular el ambiente inmediato de las células germinales en desarrollo (Griswold, 1999).

Las células de Sertoli son las células somáticas de forma piramidal o columnar localizadas dentro de los túbulos seminíferos que están asociadas íntimamente con las células germinales, sus funciones son: dar protección, nutrición y soporte para el desarrollo de las células germinales (Russell, 1999). Son importantes en la formación inicial del testículo del embrión porque ellas secuestran a las células germinales (gonocitos) dentro de los nuevos túbulos seminíferos. Un periodo característico de la proliferación de las células de Sertoli y las células germinales, es la formación testicular. Generalmente la pubertad involucra el cese de la mitosis de las células de Sertoli, la formación de las uniones herméticas entre las células de Sertoli y el progreso de las células germinales a través de la meiosis y diferenciación hacia espermatozoide (Griswold, 1999).

El espermatozoide, el principal producto del epitelio germinal se podía cuantificar solamente en biopsias de testículo del epitelio tubular seminífero o después de su aparición en el eyaculado. Los investigadores buscaron otros elementos de más fácil medición. Apreciaron que la célula de Sertoli era el mayor elemento de secreción del epitelio seminífero y que sus proteínas podían ser usadas para estudiar ésta porción del testículo. En efecto, un gran número de productos de la célula de Sertoli fueron identificados y usados para monitorear la función de éstas células y de los túbulos seminíferos tanto *in vivo* como *in vitro* (Bardin, 1994).

Las células de Sertoli están ordenadas, tanto, como ellas puedan mantener contacto físico con las células germinales. Es importante hacer notar que la regulación del ambiente de la célula germinal es probablemente una responsabilidad colectiva de las células de Sertoli y las mismas células germinales (Griswold, 1999).

Se han descrito a las células somáticas y germinales en los túbulos seminíferos de los mamíferos, poniendo especial atención a la morfología y fisiología de las células de Sertoli, sus interrelaciones y las dinámicas de su población (De Reviers, 1990). Los estudios de éstas, están enfocados sobre: a) la identificación de sus productos secretados y las posibles funciones tanto en el túbulo seminífero como en otras partes del testículo; b) definición de los factores humorales que regulan su función y examinación de sus mecanismos de acción; c) determinación de qué otras células en el testículo interactúan y regulan a las células de Sertoli y d) su definición como componente funcional del epitelio tubular seminífero (Bardin, 1994).



## II. LOS TESTICULOS

### 1. Generalidades.

Son glándulas anficrinas esenciales de la reproducción, en donde se forman los espermatozoides (Evans, 1991). Los testículos son órganos sólidos elipsoidales, cuyo volumen no guarda una proporción fija con el tamaño del cuerpo. Cada testículo está formado por estroma y parénquima. El estroma está constituido por una cápsula fibrosa gruesa, la túnica albugínea, y por los séptulos testiculares que derivan de la túnica albugínea y dividen al órgano en lobulillos (**Figura 1**). El parénquima es blando, de apariencia amarillenta o pardusca, está configurado por tejido intersticial compuesto de células de Leydig o endocrinocitos intersticiales y por túbulos seminíferos entremezclados en los que tiene lugar el proceso de la espermatogénesis (Dyce, 1999; Johnson, 1999).

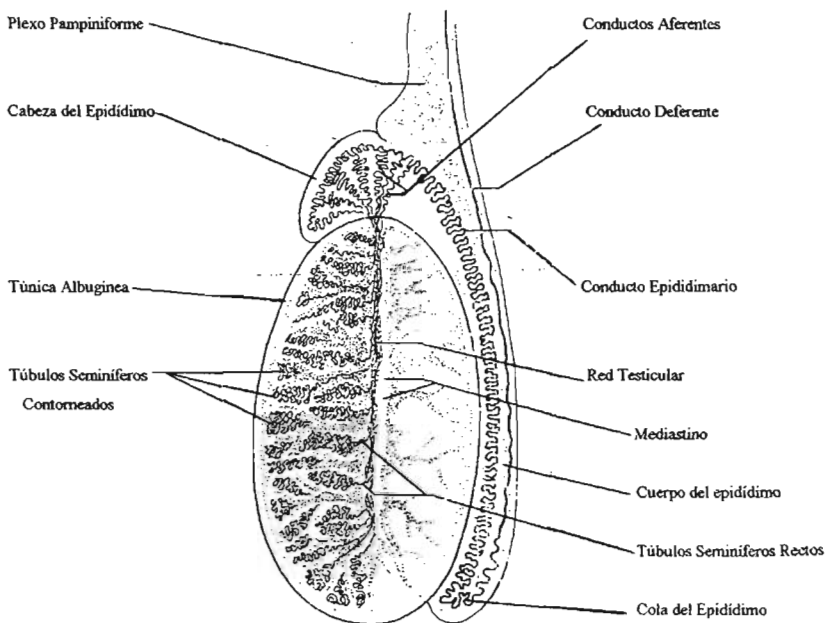


Figura 1. Sección longitudinal del testículo y epidídimo, (Dyce, 1999).

Las envolturas testiculares son: el escroto, formado por la piel escrotal y la túnica dartos. Es un saco cutáneo que en tamaño, forma y situación se adapta a los testículos que contiene; internamente a la túnica dartos, se encuentra la segunda envoltura testicular, fascia escrotal que deriva de los músculos oblicuos y transversos abdominales, ésta envoltura a su vez sustenta a la tercera, la túnica vaginal, es una membrana que forma la envoltura del cordón espermático y al testículo, es una evaginación del peritoneo parietal que pasa a través del canal inguinal, la túnica vaginal se divide en lámina parietal y lámina visceral, ésta última cubre íntimamente al testículo, epidídimo y a las estructuras del cordón espermático (Dyce, 1999; Evans, 1991).

El parénquima del testículo tiene gran cantidad de túbulos seminíferos (50-90% dependiendo de la especie) con millones de células que producen espermatozoides (Johnson, 1999). La mayoría de los túbulos seminíferos forman una intrincada masa de pequeños conductillos con un trayecto sinuoso, los túbulos seminíferos contorneados. Los extremos de éstos túbulos se unen en conductos de mayor calibre y se dirigen hacia la zona central del parénquima, son los túbulos seminíferos rectos, ya que pierden su trayecto totuoso. El área del testículo donde confluyen los túbulos seminíferos rectos se denomina mediastino testicular y corresponde a una formación en donde los túbulos seminíferos rectos se entrecruzan formando la red testicular (rete testis). El mediastino testicular y por ende la red testicular, inician en el centro del parénquima y se dirigen hacia el extremo capitular del testículo, en ésta zona la red testicular termina en una serie de pequeños conductillos que abandonan el testículo perforando la túnica albugínea, son los conductillos eferentes y a partir de ellos se forma el conducto epididimario (Evans, 1991; Getty, 1982)

El epidídimo es un órgano tubular encargado del almacenamiento y la maduración de los espermatozoides; se ubica sobre el borde epididimario del testículo. Se divide en un extremo craneal o cabeza, en donde el epidídimo se conecta con el testículo por medio de los conductillos eferentes testiculares, una parte media o cuerpo formada por el conducto epididimario que es contorneado y replegado, y un extremo caudal o cola, en donde el conducto epididimario aumenta su calibre para finalmente continuarse con el conducto deferente (**Figura 1**) (Dyce, 1999).

El cordón espermático es una estructura cilíndrica que se forma durante el descenso testicular desde la cavidad abdominal hasta el escroto a través del canal inguinal. En el cordón están incluidos los vasos sanguíneos, vasos linfáticos y plexos nerviosos testiculares junto con el conducto deferente, la túnica vaginal y el músculo cremáster. Cerca del testículo, la vena forma un intrincado plexo dentro del cual transita la arteria testicular siguiendo un trayecto muy tortuoso, dicho plexo se denomina plexo pampiniforme (Dyce, 1999).

Entre las especies domésticas los testículos se localizan y se orientan de diferente manera: en los equinos están situados en la región púbica y su eje mayor es horizontal; en los rumiantes están situados en la región púbica pero el eje mayor es vertical; en los porcinos están situados en la región perineal, y el eje mayor se dirige dorsal y caudalmente, su borde libre se relaciona con el escroto y la cabeza del epidídimo es el extremo craneal; en caninos están situados en el límite entre las regiones púbica y perineal, su eje mayor

tiene una dirección similar a los porcinos; en los felinos están situados en la región perineal y con una posición similar a la del porcino (Getty, 1982).

Los testículos y epidídimo son irrigados por sangre de las arterias testiculares, ésta se origina directamente de la aorta abdominal poco después de las arterias renales (Dyce, 1999; Frandson, 1995). El escroto es irrigado por la arteria pudenda externa, la cual sale de la cavidad abdominal pasando a través del conducto inguinal, y por la arteria perineal ventral, la cual es rama de la arteria pudenda interna. La sangre que sale del testículo es llevada por las venas testiculares, la del lado izquierdo se dirige hacia la vena renal izquierda y la de la derecha hacia la vena cava (Dyce, 1999; Hafez, 2002).

Los nervios testiculares aferentes y eferentes, de poca relevancia, son de origen autónomo, derivados de los plexos renal y mesentérico caudal, las fibras nerviosas acompañan a la arteria testicular (Hafez, 2002; Dyce, 1999; Frandson, 1995). En la mayoría de los mamíferos los nervios que proveen al testículo surgen desde el ganglio gonadal situado cerca del origen de la arteria testicular. Este ganglio recibe neuronas eferentes simpáticas desde la salida simpática lumbar y se comunica a las neuronas postganglionares del testículo en los nervios espermáticos superiores, los cuales corren junto a la arteria testicular (Waites, 1990).

Los testículos tienen principalmente dos funciones, combinando de ésta forma componentes endócrinos y exócrinos. El componente endocrino (secreción de testosterona por las células de Leydig) funciona normalmente a la temperatura interna del cuerpo, pero la producción de los gametos masculinos dentro de los túbulos seminíferos (componente exócrino) requiere una temperatura inferior a la que existe dentro del abdomen (Carreau, 2002; Gayton, 2001; Junqueira, 2000; Dyce, 1999; Johnson, 1999).

Para funcionar correctamente, los testículos de los mamíferos deben mantenerse a una temperatura menor que la del resto del cuerpo. Determinadas características anatómicas del testículo y escroto permiten la regulación de la temperatura testicular (Hafez, 2002). Las bolsas escrotales son importantes para mantener los testículos a una temperatura inferior a la temperatura abdominal (Junqueira, 2000). Una temperatura menor es de gran importancia para el funcionamiento de las funciones testiculares normales, particularmente para el proceso de la espermatogénesis (Steinberger, 1991).

En la regulación térmica del testículo de los animales intervienen tres estructuras anatómicas especiales. Primero, derivado del músculo oblicuo abdominal interno, el músculo *cremáster* (Hafez, 2002), es parcialmente voluntario y recoge el escroto hacia la pared abdominal y cuando se relaja por completo deja a los testículos pendulosos y el escroto al máximo de distensión. En segundo término, interviene la túnica dartos, es una musculatura lisa inmediata a la pared interior del escroto que además, se extiende a la división entre los dos testículos. Esta musculatura trabaja por autorregulación y refuerza la acción del cremáster (De Alba, 1985), permite modificar el espesor y la superficie del escroto y variar la cercanía del contacto de los testículos con la pared corporal (Hafez, 2002). En tercer término está el llamado plexo pampiniforme, se encuentran en estrecha proximidad la arteria y la vena espermática pampiniforme, una en íntimo contacto con la otra, lo que permite un intercambio térmico (De Alba, 1985)

### III. TUBULOS SEMINIFEROS

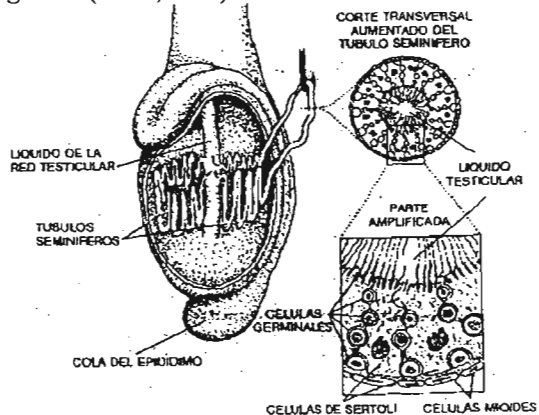
Cada túbulo seminífero tiene un diámetro de alrededor de 200 a 250 $\mu$ m (Setchell, 1991) y su longitud total sería de varios kilómetros. La naturaleza contorneada proporciona al testículo una enorme red de tubos seminíferos con una longitud calculada de tres a seis mil metros en el cerdo, siete mil en el borrego y cinco mil en el toro (De Alba, 1985). En el carnero los túbulos miden alrededor de 3000m (Setchell, 1991) de longitud total, cerca de 11m/g con un área basal de alrededor de 85cm<sup>2</sup>/g. La longitud de los túbulos seminíferos decrece con la edad conforme cae el peso testicular (Setchell, 1994).

El epitelio germinativo seminífero es básicamente un epitelio estratificado, está compuesto de dos tipos de células, las somáticas, células de Sertoli no proliferativas y las que son altamente proliferativas, las células germinales, siendo éstas últimas de tres tipos: espermatogonia, espermátocitos y espermátidas. Las células de Sertoli, son mucho más abultadas y con la pared que va hacia el interior un tanto difusa o mal alineada, se extienden desde la lámina basal hacia la luz de los túbulos seminíferos y las células que componen la línea espermatogénica o seminal son más pequeñas y redondas (Plöen, 1989; Steinberger, 1991; Johnson, 1999; Junqueira, 2000) (**Figura 2**).

A un nivel superior, las células de Sertoli vecinas forman extensas uniones ocluyentes y en consecuencia las células de Sertoli forman una continua capa que divide al epitelio seminífero en dos compartimentos, un basal y un adluminal. Como una consecuencia, todas las sustancias de la circulación principal que los espermátocitos y espermátidas requieren, deben pasar a través de las células de Sertoli o por sus uniones ocluyentes (Plöen, 1989; Setchell, 1991; De Kretser, 1994; Chen, 2001). La barrera que existe entre el plasma sanguíneo, la linfa y el interior de los tubos seminíferos, tienen una gran importancia fisiológica (De Alba, 1985). Las células sustentaculares (de Sertoli) de los túbulos forman esta barrera, que aísla la circulación general a las células germinales en su diferenciación (Hafez, 2002).

En todo el testículo, ocurre el desarrollo aleatorio de gonocitos hasta espermatogonios A definitivos. Esto, junto con la formación de células de Sertoli, marca el fin del periodo prepupal y el inicio de la espermatogénesis (Hafez, 2002).

Fig. 2. Túbulo seminífero extraído y amplificado en corte transversal para mostrar la microanatomía del epitelio seminífero (Hafez, 2002).



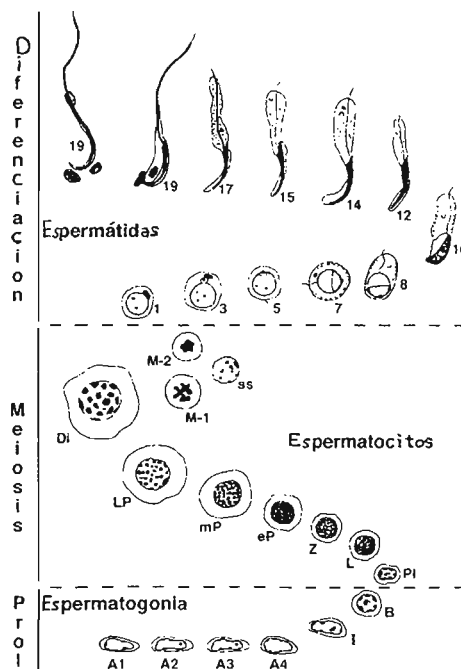
## IV. ESPERMATOGENESIS.

### 1. Generalidades.

La secuencia de eventos en el desarrollo del espermatozoide desde la espermatogonia es referida como *espermatogénesis* (Wrobel, 1998). Este es un proceso complejo, en el cual las células germinales interactúan estrechamente con la células de Sertoli por medio de un contacto directo célula-célula y de interacciones paracrinas (Akama, 2002). Las células de Sertoli son células nodriza para las células germinales, de primera importancia para iniciar y mantener la espermatogénesis (Petersen, 2002; Longin, 2002).

La espermatogénesis es un proceso de división, diferenciación y desarrollo celular que ocurre en tres fases: a) mitosis (multiplicación de la espermatogonia), también conocida como espermatocitogénesis y es el proceso durante el cual la espermatogonia se desarrolla a espermatocito; b) meiosis (dos divisiones), es la división de maduración de los espermatocitos que resulta en espermátidas con un reducido (haploide) número de cromosomas; y c) posmeiótica o espermiogénesis, que es la transformación de la espermátida haploide a un espermatozoide testicular (Plöen, 1989, De Reviers, 1990, Jonson, 1991; Wrobel, 1998; Hess, 1999; Dellmann, 1999; Pace, 2000; Don, 2002; Hafez, 2002; Luk, 2003). La meiosis y la espermiogénesis tienen lugar en el compartimiento adluminal (Plöen, 1989) (*Figura 3*).

Fig. 3. Desarrollo de la célula germinal en la espermatogénesis en la rata. La fase de proliferación incluye divisiones espermatogónicas repetidas desde espermatogonia tipo A (A1-A4) a intermedia (I) y células tipo B. La meiosis es una fase extendida que comienza después de que la espermatogonia tipo B se divide para producir espermatocitos preleptoteno (PI). La profase meiótica comienza con pequeños espermatocitos leptotenos (L). Las células crecen conforme continúa la profase a través del zigoteno (Z) y paquíteno primario, medio y tardío (eP, mP, LP). Las células diploteno sufren la primera división meiótica (M-1) produciendo espermatocitos secundarios (ss). Después de la segunda división meiótica (M.2), las células haploides llamadas espermátidas inician la fase de diferenciación para formar los pasos de las espermátidas redondas (1-7). las espermátidas redondas son lentamente transformadas hacia células elongadas (Pasos 8-19) y finalmente hacia espermatozoides los cuales son liberados. (Hess, 1999).



Durante toda la espermatogénesis, tienen lugar diferentes eventos bioquímicos, celulares y moleculares en el epitelio seminífero principalmente para la formación de ocho espermátidas (haploides) solo a partir de la espermatogonia B (diploide). Además los espermaticitos preleptoteno y leptoteno deben de migrar progresivamente del compartimiento basal hacia el lumen del epitelio seminífero atravesando la barrera hemato-testicular (BTB), mientras se van diferenciando hacia el interior en espermátidas haploides. Sin este movimiento oportuno del desarrollo de las células germinales a través del epitelio seminífero, la espermatogénesis no puede ser completada y la infertilidad resulta determinante (Syed, 2002; Cheng, 2002). Además este evento del movimiento celular esta acompañado por una amplia reestructuración de célula a célula y uniones de adherencia teniendo como base la actina entre las células de Sertoli y las germinales, como las especializaciones ectoplásmicas (ES) (Cheng, 2002).

El proceso divisional completo de la espermatogénesis desde los espermatogonios hasta las espermátidas requiere de 74 días en el hombre, de 50 a 61 días en el toro, 61 días en el perro, 60 días en la rata, de 50 a 57 días en el caballo, de 47 a 50 días en el carnero y de 39 días en el verraco (Hafez, 2002; Johnson , 1991; Wrobel, 1998).

## 2. Regulación hormonal de la espermatogénesis.

La espermatogénesis en los mamíferos está delicadamente controlada por muchas hormonas. La espermatogénesis normal requiere de los efectos combinados de las gonadotropinas, andrógenos y posiblemente de otras hormonas. Esto es, que se requiere de estimulación por gonadotropinas adenohipofisarias, las cuales a su vez son controladas por la secreción pulsátil de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) del hipotálamo, onda de retroalimentación conocida como eje hipotálamo-hipofisario-gonadal (Johnson, 1991; Hafez, 2002).

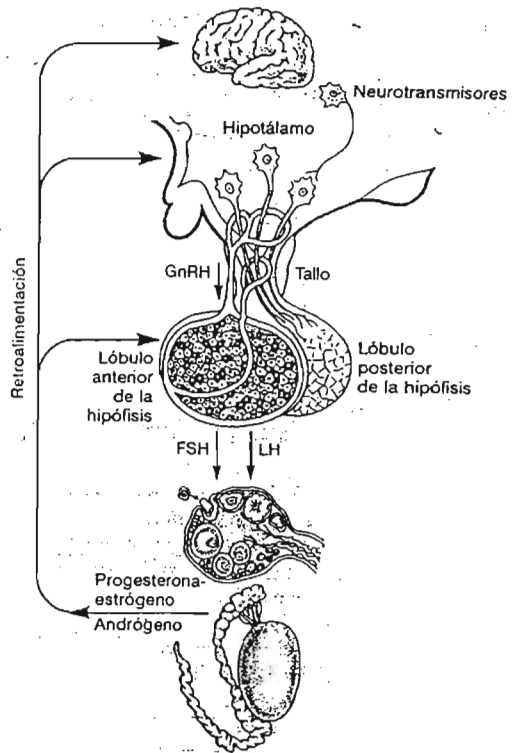
### *a) Andrógenos y Gonadotropinas.*

Los testículos no sólo producen el principal andrógeno, la testosterona, sino también una serie de hormonas esteroides relacionadas. Al parecer la principal acción de los andrógenos es sobre las células de Sertoli más que directamente sobre las células germinales. Posiblemente las células mioides también dependen de andrógenos. La dependencia de esteroides se satisface mediante la producción pulsátil de andrógenos por los endocrinocitos intersticiales (células de Leydig), que están adyacentes a los túbulos seminíferos, éstas células son estimuladas por pulsos de LH hipofisaria para secretar andrógenos (Sanfilippo, 1989; De Reviers, 1990; Sharpe, 1994; Junqueira, 2000; Hafez, 2002). Los receptores de la LH están exclusivamente en las células de Leydig (Vihko, 1991).

La LH (hormona luteinizante) es un péptido secretado en forma pulsátil por las gonadotropas pituitarias bajo la influencia de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) producida por las neuronas y transferida a la pituitaria en la sangre de los capilares hipotálamo-hipofisiales. Los pulsos de la GnRH controlados por influencias ambientales e hipotalámicas, como la estación y la luz, determinan la frecuencia de pulsos de LH en la circulación periférica. De este modo el testículo esta sujeto a fluctuaciones de los niveles de

LH los cuales son probablemente reflejados en la concentración de ésta hormona en el fluido intersticial alrededor de las células de Leydig. La FSH (hormona foliculo estimulante) también es un péptido que es liberado por la GnRH endógena aún cuando las concentraciones en la sangre periférica son más estables y muestran poca evidencia de secreción pulsátil. Receptores para la FSH se establecen solo sobre las células de Sertoli y en el adulto están sobre la región basal de la célula, fuera de las uniones herméticas Sertoli-Sertoli (De Revers, 1990; Vihko, 1991) (Figura 4).

Fig. 4. Relación endocrina-neuroendocrina entre el hipotálamo la hipófisis y gónada (ovario, testículo). los materiales neurosecretorios hipotalámicos (GnRH) son transportados por los capilares sanguíneos porta a las células del lóbulo anterior de la hipófisis. La FSH y la LH estimulan las gónadas. Los estrógenos y andrógenos secretados por las gónadas ejercen una retroalimentación (Hafez, 2002).



La hormona foliculo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH) constituyen la regulación hormonal básica de la espermatogénesis. La FSH se liga a las células epiteliosustentaculares y de éste modo activa la producción y secreción de factores necesarios para la supervivencia y diferenciación de las células germinales. La LH se liga a los endocrinocitos intersticiales, localizadas en las regiones intersticiales (entre los túbulos), activando la producción y secreción de testosterona, la cual ejerce sus efectos sobre la espermatogénesis, por medio de las células de Sertoli (Don, 2002; Xing, 2002; Nieschlag, 2003).

La producción de andrógenos por las células de Leydig es iniciada en la vida fetal, por medio de la estimulación de las gonadotropinas pituitarias de la placenta y después del feto y es importante para el desarrollo de los tejidos derivados desde los ductos de Wolffian (De Reviers, 1990). La acción del andrógeno está mediada por el receptor de andrógeno (RA), el cual en el testículo es expresado por las células de Leydig, peritubulares y de Sertoli (Quian, 1999; Eckardstein, 2001; Bilinska, 2001), mientras en los machos inmaduros solamente la inmunotinción positiva es exhibida en las células de Sertoli y células de Leydig (Bilinska, 2001). En el testículo de mamífero, incluyendo el de los humanos, está ya claro que un medio por el cual la regulación paracrina entre la espermatogénesis y la esteroidogénesis ocurra, es por la vía del receptor de andrógeno, localizado en el núcleo de las células epiteliosustentaculares (Ragadera, 2001).

La formación de estrógenos desde andrógenos es catalizada por el citocromo P450 aromatasa (P450arom), el producto del gen *cyp 19*. Algunos investigadores atribuyen la aromatización de los andrógenos a las células de Sertoli, mientras otros demandan que las células de Leydig sintetizan estrógenos (Bilinska, 2001).

Varias líneas de evidencia de modelos animales así como de observaciones clínicas sugieren que la testosterona y la LH actúan sinérgicamente sobre el mantenimiento e iniciación de la espermatogénesis (De Reviers, 1990; Eckardstein, 2001).

#### *b) Estrógenos.*

Los estrógenos influyen el crecimiento, diferenciación y función de los tejidos reproductivos, como el ovario, glándula mamaria, útero, vagina, testículo, epidídimo y próstata. La mayor parte de los efectos de los estrógenos están mediados por un sendero genómico, el cual involucra la ligadura del estrógeno a un receptor intracelular. El receptor de estrógeno (RE) pertenece a una sola superfamilia de receptores que también incluyen a los receptores de andrógeno, progestinas, glucocorticoides, mineralocorticoides, así como a la hormona tiroidea, ácido retinóico y vitamina D. Los estudios histológicos y bioquímicos han previamente demostrado la presencia del RE en el cerebro, pituitaria y tejidos reproductivos periféricos del hombre y de la mujer. La presencia del RE en las células de Sertoli sugiere que los estrógenos pudieran influenciar la función y maduración de la célula germinal (Pelletier, 2000).

#### *c) Hormona Tiroidea y del Crecimiento.*

La situación pudiera ser algo diferente durante la prepubertad y pubertad, cuando los factores metabólicos generales tales como la *hormona tiroidea* y la *hormona del crecimiento* podrían tener efectos sobre el desarrollo testicular, especialmente sobre la replicación de las células de Sertoli (Sharpe, 1994). La hormona del crecimiento (así como la mayor parte de las restantes hormonas) es necesaria para controlar las funciones metabólicas básicas de los testículos. Específicamente, la hormona del crecimiento promueve la división temprana de las propias espermatogonias; en su ausencia, la espermatogénesis es muy deficiente o no tiene lugar, causando esterilidad (Guyton, 2001).



#### *d) Prolactina.*

Esta podría jugar un papel importante, especialmente en animales con reproducción estacional (De Reviers, 1990; Sharpe, 1994). Estos efectos de la prolactina y los cambios consecuentes en la espermatogénesis, son causados primariamente por la alterada secreción de las gonadotropinas por la glándula pituitaria. En general, el efecto de la prolactina es para incrementar el número de receptores de LH y en consecuencia, incrementar la sensibilidad de las células de Leydig a la estimulación de la LH (Sharpe, 1994). Variaciones del fotoperiodo pueden conducir a la estimulación, mantenimiento o supresión de la función testicular. La glándula pineal y la melatonina parecen ser importantes intermediarios en la acción del fotoperiodo sobre la secreción de prolactina, pero el involucramiento de la prolactina en la función testicular es enigmática. Cambios plasmáticos de la prolactina no afectan la regulación de los receptores de la LH o FSH en el carnero. Por otro lado, la crianza en largos días de fotoperiodo ha incrementado la secreción de prolactina en el carnero (De Reviers, 1990).

#### *e) Oxitocina.*

La oxitocina es producida en varios puntos a lo largo del tracto reproductivo, incluyendo el testículo, así como también por la glándula pituitaria posterior (Neurohipófisis). La evidencia disponible sugiere que la oxitocina es producida por los endocrinocitos intersticiales (Leydig) y que ésta secreción ejerce una influencia paracrina sobre la contractilidad de las células mioideas peritubulares en la rata y el ratón (Sharpe, 1994).

#### *f) Insulina.*

Las células sustentaculares controlan el ambiente de todas las células germinales espermatogónicas y una de las claves de requerimiento, es la energía, la cual provee la célula de Sertoli, primariamente en forma de lactato y piruvato más bien que la glucosa y esto pudiera ser bajo el control de la FSH, al menos en la rata inmadura. La glucosa parece tener efectos detrimentales sobre las células germinales. Por eso la insulina juega un papel importante en la regulación de captación y metabolismo de la glucosa por todas las células, incluyendo las células de Sertoli. Las grotescas anomalías en la producción de insulina, como ocurre en la diabetes, podría tener efectos adversos sobre la espermatogénesis (Sharpe, 1994).

La iniciación de la espermatogénesis puede depender de la maduración local de las células de Sertoli las cuales en turno pudieran variar en sensibilidad a las gonadotropinas. Un número de sistemas control tienen que ser sugeridos, incluyendo el de una sustancia preventiva de la meiosis, originada en las células de Sertoli. También células desde los túbulos mesonéfricos (red testicular) podrían producir una sustancia estimuladora o contribuir directamente a la formación de las células de Sertoli. La diferenciación de las células de soporte hacia células de Sertoli podrían también suprimir la secreción de la sustancia preventiva (De Reviers, 1990).

## V. LA CELULA DE SERTOLI (EPITELIOCITO SUSTENTACULAR).

### 1. Definición

Es una célula somática alargada, columnar y estrellada presente en el epitelio seminífero de los mamíferos. Firmemente fijadas en la membrana basal del túbulo seminífero, están claramente relacionadas estructuralmente y funcionalmente a todas las células germinales y en particular a las espermatidas (Russell, 1999). Estas células han recibido varios nombres: células de sostén, células nodriza o nutricias, células de soporte, células sustentaculares o epiteliosustentaculares y células ramificadas (De Alba, 1985; De Reviers, 1990; Russell, 1999).

Las células de Sertoli fueron llamadas así, después de que su descubridor, Enrico Sertoli, quien en 1865, a la edad de 23 años dio una descripción de ellas (De Alba, 1985; De Reviers, 1990; Russell, 1999). Los dibujos de Sertoli de la célula fueron asombrosamente precisos y él perspicazmente notó que ésta célula debía de involucrarse en la producción de espermatozoides (Russell, 1999). Von Ebner propuso primero que una relación fisiológica existía entre las células de Sertoli y las células germinales. Sin la ventaja de equipo óptico moderno y métodos de preservación de tejidos, Sertoli y Brown construyeron diagramas de la forma de los epitelioscitios indicando la longitud pronunciada del eje centripeto comparado al eje circunferencial. No obstante, nuevas investigaciones de la estructura de las células por Regaud y Von Ebner verificaron las observaciones de Sertoli que éstas células presentaban un núcleo altamente irregular y elaboraban procesos citoplásmicos ramificantes, la resolución limitada de sus microscopios de luz alzaban un punto de controversia con respecto a la existencia como un sincitio o como una célula individual. Vistos los argumentos anteriores de Sertoli de que éstas células eran unidades independientes y no formaban una relación sincitial con cada una de las demás, von Ebner expuso adelante la noción de que una relación simbiótica existía entre las células de Sertoli y las demás generaciones maduras de las células germinales, de tal modo que formaban una unidad funcional, la cual nombró, espermatoblasto (De Kretser, 1994). No hay ejemplos en mamíferos en los cuales se prolongue el desarrollo de la célula germinal en la ausencia de las células de Sertoli (Russell, 1999).

### 2. Origen.

Elas se originan del mesonefros y colonizan la zona germinal hacia su diferenciación sexual. Se derivan desde el epitelio celómico (De Reviers, 1990). Las células sustentaculares se derivan desde las células de soporte indiferenciadas de la gónada prepuberal. Estas células son mitóticamente activas y aquí juegan un papel fundamental en la diferenciación de la formación gonadal hacia testículo produciendo la hormona antiparameconéfrica, una glucoproteína que provoca la atrofia del conducto de Müller o lo que es lo mismo suprime el desarrollo del tubo uterino, útero y vagina para diferenciarse en macho (Dellmann, 1999; Russell, 1999; Junqueira, 2000). Con la formación del túbulo seminífero, las células de Sertoli se distribuyen circunferencialmente en la membrana basal y su citoplasma se extiende hacia el lumen (De Reviers, 1990). Conteniendo cordones de células germinales primitivas son formados por la agregación de células de Sertoli. En

roedores se da la maduración gonadal dentro de las primeras semanas de nacido, las células proliferan en el último periodo prenatal y probablemente postnacimiento mediante la estimulación de los receptores celulares de FSH. Para la mayor parte de las especies el número de epiteliositos sustentculares extienden un pico previo para llegar a la maduración gonadal y no cambiar notablemente durante toda la vida adulta. El homólogo de la célula de Sertoli en la hembra es la célula granulosa (Russell, 1999).

Los epiteliositos sustentculares resultan de la multiplicación de sus precursores, las células de soporte, durante la vida fetal y la infancia y sus multiplicaciones están bajo control pituitario. El máximo número por testículo se establece para la edad adulta cuando las células de soporte detienen su división diferenciándose hacia células de Sertoli (De Reviers, 1990). Durante la pubertad, la diferenciación de la célula sustentcular está acompañada por una transformación morfológica y pérdida de la capacidad mitótica (Wrobel, 1998). En los mamíferos la apariencia de la célula de Sertoli primordial es el primer evento identificable en la diferenciación testicular. Los primeros estudios histológicos de la diferenciación testicular fetal de la rata se confirmaron posteriormente por estudios ultraestructurales e indicaron que éstas células aparecen sobre el día 13 post-fertilización y entonces se agregan y forman cordones seminíferos al día siguiente. El factor responsable para despertar la apariencia de la célula de Sertoli primordial no ha sido identificado pero presumiblemente está relacionado a productos de genes, codificados en el cromosoma Y, que señala la gónada fetal bipotencial para desarrollarse hacia un testículo (Bardin, 1994; Griswold, 1999).

Continuando la apariencia inicial de las distintas células de Sertoli y los primeros estados de la organogénesis, hay un periodo de proliferación rápida. En la rata éste comienza en la vida fetal, continuando durante los principios de la vida neonatal y completándose antes del cierre de la barrera hematotesticular. La población del epiteliosito en el adulto es determinante durante este periodo, alguna destrucción del proceso proliferativo determina un efecto profundo reduciendo la última población de la célula, la cual, a su vez, influencia el tamaño testicular del animal adulto. Durante el periodo de rápida proliferación celular, el epiteliosito debe comenzar a adquirir la maquinaria necesaria para soportar la espermatogénesis en el animal maduro. Estos cambios incluyen desarrollo ultraestructural de organelos y adquisición de actividades sintéticas y metabólicas, y características de la célula madura. Algunas de las propiedades morfológicas y funciones expresadas de estas células están reservadas en común con otros tipos de células en el animal, mientras que otras son únicas para las células de Sertoli (Bardin, 1994).

Los epiteliositos sustentculares en conjunto conforman del 11 al 40 % del volumen del epitelio seminífero dependiendo de la especie. Llegan a ser cerca de 20 millones hasta 40 billones por testículo dependiendo de la especie mamífera hasta ahora estudiada (Russell, 1999). En el carnero, el número de células de soporte es alrededor de  $1 \times 10^6$  justo después de la diferenciación sexual,  $0.5 \times 10^8$  al nacimiento y  $20-40 \times 10^8$  son observadas en carneros adultos. En el carnero adulto las variaciones numéricas en la acumulación del epiteliosito han sido observadas como una función de raza y estación al nacimiento, pero no como una función de fotoperiodo. El número de éstas células es alrededor de  $10-12 \times 10^6$  por gramo de testículo en aves y mamíferos y varía con cada especie. Este número se ha

demostrado para ser de  $200 \times 10^6$  por testículo en pollitos, de  $15-20 \times 10^6$  en ratas, de  $20-40 \times 10^8$  en toros y carneros y de  $30-40 \times 10^8$  en caballos (De Reviers, 1990).

Las células de Sertoli organizan el epitelio seminífero durante la maduración gonadal. Después la división de la espermatogonia hacia espermatocitos, adyacentes a los epitelocitos forman extensas hileras de uniones herméticas, estableciendo una barrera. Estas forman un sincitio rodeando el lumen de los túbulos seminíferos. En muchas especies incluyendo el humano, cada célula de Sertoli soporta de 6-12 espermatidas elongadas (Johnson, 1999). Una medición cuidadosa de la densidad numérica de la población germinal y de las células de soporte da una proporción de 16 :1, dándose así, porque la densidad de volúmen de las células germinales en comparación a los epitelocitos es un poco menor, por ser elementos más pequeños (Bardin, 1994) (Figura 5).

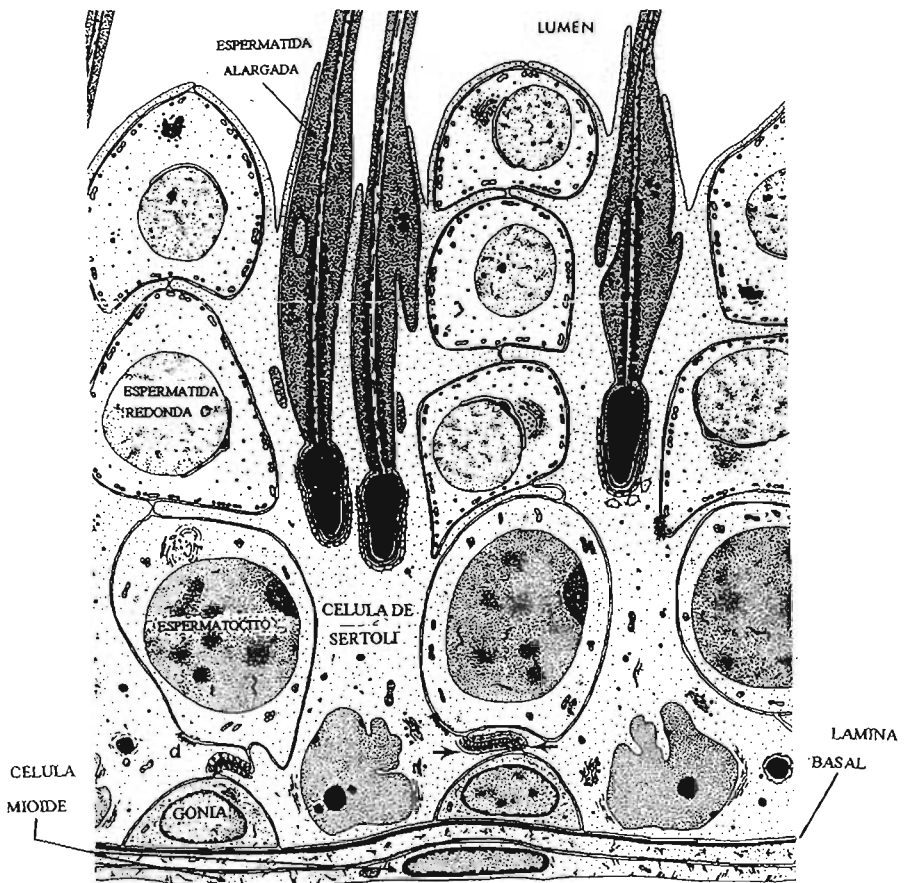
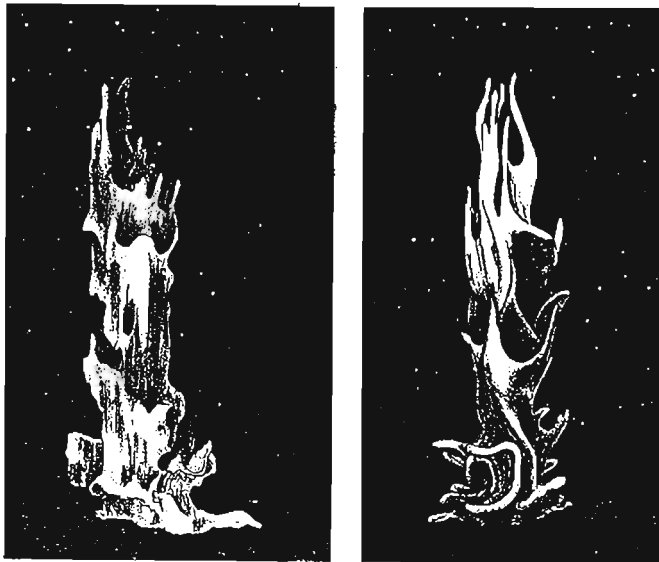


Fig. 5. Representación de las células de Sertoli conforme ellas residen entre las células germinales del tubo seminífero. La base de la célula de Sertoli reside sobre la lamina basal a lo largo con la espermatogonia (gonia) (Russell, 1999).

### 3. Rasgos Estructurales.

Son alargadas, y se apoyan sobre la membrana basal del túbulo seminífero (Wheater, 1987; Junqueira, 2000). Son células extremadamente grandes con una forma altamente inusual (Russell, 1999). Con un método de tinción de plata aplicado en secciones con parafina, Elftman concluyó que en el testículo de rata, eran altas y de forma columnar y su distribución dentro del epitelio seminífero asemeja a un modelo de árboles plantados en una huerta. Sobre las bases de éste y estudios anteriores sobre el testículo del ratón, el aspecto basal de las células de Sertoli, la mayor parte fácilmente visible por el microscopio de luz, fue comparado con un tronco de un árbol, las muchas ramificaciones citoplásmicas entre las células germinales de alrededor son análogas a las ramas de un árbol (De Kretser, 1994) (*Figura 6*).

El volumen de ésta célula de los mamíferos fluctúa desde los 2000 a los 8000  $\mu\text{m}^3$ , es larga comparada con las demás células del cuerpo (Russell, 1999).



*Fig. 6.* Dos vistas de una singular célula sustentacular reconstruida de rata. La célula reconstruida tuvo aproximadamente 90  $\mu\text{m}^3$  de talla y se extendió desde la base hacia el lumen del túbulo seminífero. La superficie es altamente irregular en su contorno, conformándose a las formas de las células de Sertoli adyacentes (Kretser, 1994).

### a) El Núcleo.

En una amplia variedad de animales, el núcleo exhibe una morfología característica fácilmente visible dentro del aspecto basal del epitelio seminífero (De Kretser, 1994). El núcleo es mucho más grande que el de las células del epitelio germinal, es muy visible por su forma ovoide y alargada con cromatina firmemente dispersa, compuesto por nucleoplasma eucromático (De Reviers, 1990; De Kretser, 1994) y está situado cerca de la membrana basal y orientado de manera característica, en ángulo perpendicular a la membrana basal y presenta frecuentemente una profunda invaginación; un detalle constante es la existencia de un nucleolo grande y denso y también la presencia de cuerpos cromatínicos densos asociados al nucleolo (De Alba, 1985; Wheeler, 1987; De Reviers, 1990; Junqueira, 2000).

El nucleolo está compuesto de varias partes clásicas, dos fibrilares y una granular, más un espacio vacuolar que aparece hacia la pubertad en algunas especies (De Reviers, 1990). Las células sustentaculares del humano contienen un nucleolo relativamente grande y su intensa tinción con colorantes básicos facilita la identificación del núcleo dentro del epitelio seminífero. Su configuración usual semeja una estructura tripartita con una masa nucleolar compacta densa central, propiamente el nucleolonema. Desde éste cuerpo, variables proyecciones a menudo se extienden superficialmente para lograr asociación con dos zonas de material de heterocromatina. Estos dos cuerpos asociados lateralmente son a veces mencionados como los pares amorfos, esferas amorfas, cariosomas satélites o cuerpos heteropicnóticos, los cuales se tiñen positivamente por la presencia de DNA con la reacción de Feulgen, mientras el nucleolonema permanece negativo (De Kretser, 1994).

El nucleolo es fácilmente identificado en el núcleo y alcanza especial prominencia en tamaño y densidad electrónica en las células de Sertoli del ratón, cobayo y hamster. En el nucleolo de ratón, el nucleolonema contiene componentes fibrilares formando series de anillos que rápidamente incorporan uridina tritiada [ $^3\text{H}$ ], indicando sitios de síntesis de RNA. Estudios autoradiográficos después de la incorporación de [ $^3\text{H}$ ] indicaron que la transcripción del DNAr ocurrió en el sistema nucleolar fibrilar, indicando que en los centros fibrilares anteriormente mencionados no son el sitio de transcripción del gen RNAr (De Kretser, 1994).

Una morfología nucleolar altamente inusual ha sido descrita para los epitelocitos sustentaculares del bovino, las cuales despliegan una agregación de muchas vesículas limitadas a la membrana promediando de 0.2 a 0.35  $\mu\text{m}$  en diámetro y cargando gránulos de 15  $\mu\text{m}$  sobre su superficie externa. Estructuras similares se han observado en los epitelocitos del carnero, bufalo Africano y antilope del Este de Africa, y se ha sugerido que en otras especies ruminantes podrían desplegar estos cuerpos nucleolares multivesiculares. Aunque estas formas membranosas del nucleolo en éstas células se asemejan a aquellas observadas en el endometrio humano y a la espermatogonia oscura tipo A (De Kretser, 1994).

Muchos poros nucleares atraviesan la membrana nuclear la cual está cercada con una fina zona de filamentos citoplásmicos de 7  $\mu\text{m}$ , formando una vaina de 150 a 250 nm en

espesor para conferir rigidez al núcleo y evitar la incursión de organelos citoplásmicos (De Kretser, 1994).

El núcleo irregularmente formado, muestra especializaciones regionales que indican tener funciones diferenciales asociadas con los varios tipos de células germinales con los cuales están simultáneamente asociados (Russell, 1999). El núcleo despliega variación cíclica en tamaño dependiendo de las células germinales adyacentes, la estación y el estado hormonal del animal (De Reviere, 1990).

#### b) El Citoplasma.

En general, los componentes del citoplasma muestran una distribución polarizada. Las regiones basal y del tronco bajo del citoplasma contienen una abundancia de organelos e inclusiones, mientras las extensiones apicales usualmente exhiben una escasez de tales estructuras (De Kretser, 1994).

El citoplasma es abundante y se extiende en pilares triangulares hacia el centro, es claro, mal delimitado y de forma sumamente irregular. Contiene numerosos gránulos, fibrillas y cristaloides a manera de tentaculillos, que pueden envolver a las espermatidas en desarrollo (De Alba, 1985; Wheeler, 1987; Junqueira, 2000). La forma general es básicamente cilíndrica de 70-80  $\mu\text{m}$  de altura X 25  $\mu\text{m}$  de ancho en la rata, pero quizá está mejor describirla como un árbol proporcionando brazos laminares de 20-25  $\mu\text{m}$  de largo rodeando a todas las células germinales excepto a la espermatogonia (De Reviere, 1990).

El citoplasma posee una gran cantidad de finas *mitocondrias* orientadas a lo largo del eje longitudinal de la célula, que se extiende desde la base del túbulo hacia el lumen, numerosas *vesículas lipídicas* (Dellmann, 1999; Johnson, 1999) comunes entre las especies. Su acumulación es cíclica, debido a la reabsorción de los cuerpos residuales. Ellas son numerosas durante la estación no reproductiva de los mamíferos domésticos con reproducción estacional (De Reviere, 1990). La mitocondria en la rata exhibe formas de S o contornos tipo buñuelo o pesa irregular de gimnasio, en adición a las usuales formas redondas y alargadas. En todas las especies hasta ahora examinadas, la mitocondria tiene orientado transversalmente cristae pero la forma tubular es frecuentemente encontrado particularmente en las variedades esféricas (De Kretser, 1994).

Contienen también, relativamente poco *retículo endoplásmico rugoso o granular* (De Kretser, 1994; Dellmann, 1999), el cual se presenta como diversas longitudes cortas paralelas a la cisterna o alternativamente tienen la forma de túbulos individuales pequeños principalmente en la base o tronco del citoplasma. La ocurrencia del *retículo endoplásmico agranular o liso* se ha descrito exhaustivamente y no hay un modelo morfológico general que pueda ser aplicado para una descripción del retículo endoplásmico liso, puesto que ha sido referido como vesicular, tubular, cisternal, fenestrado o laminar. La mayor distribución del retículo endoplásmico liso de la célula de Sertoli ocurre en varias especies artiodáctiles (cuadrúpedos con pezuña) como el toro, verraco, carnero, antilope y gazela, en donde masas compactadas largas de membranas lisas cubren y rodean el desarrollo de las cabezas de las espermatidas alargadas. Un desarrollo remarcable del retículo endoplásmico liso en

relación a la maduración de las espermatidas está en la ardilla, donde justo antes para liberar el esperma, la cabeza de la espermatida es retenida por la vía de ésta asociación con proyecciones del citoplasma de la célula de Sertoli llenas de retículo endoplásmico liso. Después de la espermiación, éstas masas membranosas son transportadas hacia la base de cada epiteliocito. En la rata, el retículo endoplásmico liso sufre cambios cíclicos en su morfología, desde tubular a vesicular, en asociación con el ciclo espermatogénico (De Kretser, 1994). La existencia de un retículo endoplásmico liso sugiere que éstas células, son por alguna razón desconocida, muy activas en la biosíntesis lipídica, siendo abundante en la región próxima al desarrollo acrosomal de la espermatida (Bardin, 1994; Dellmann, 1999).

También están presentes *microfilamentos* y *microtúbulos* que también se disponen paralelos al eje longitudinal de la célula, también *filamentos de actina* que están probablemente involucrados en los cambios de su forma durante la migración de las células germinales desde la base hacia el lumen del túbulo seminífero, y *lisosomas*. (Wheater, 1987; Dellmann, 1999; Russell, 1999).

El *complejo de Golgi* es grande (De Reviere, 1990), la estructura de los múltiples elementos de Golgi en este tipo de célula es también consistente con un mecanismo altamente activo para procesar nuevamente proteínas sintetizadas; sin embargo, parece ser insuficiente el retículo endoplásmico rugoso para considerar la síntesis apreciable de proteína. Estas observaciones junto con: (a) la falta de vacuolas o gránulos secretorios ligados a la membrana en asociación con Golgi, (b) la escasez de evidencia morfológica por exocitosis y (c) el pequeño número de vesículas abriendo hacia las superficies laterales de las células de Sertoli, sugieren que éste tipo de células no libera una cantidad significativa de proteína hacia la luz del túbulo seminífero, sin embargo, pueden secretar hasta 100 proteínas, un hallazgo consistente con las estructuras de la cromatina nuclear y el complejo de Golgi. En los testículos de la rata y el ratón el aparato de Golgi consiste de un sistema primario, visible solamente con microscopio electrónico, de placas membranosas perforadas e interconectadas por estrechos puentes. (De Kretser, 1994).

Existe también *glucógeno* el cual se acumula durante la maduración de las espermatidas y desaparece poco antes de la espermiación. Esta síntesis progresiva tiene lugar en las espirales del retículo endoplásmico localizados cerca de las numerosas gotitas lipídicas sobre el lado basal de la célula (De Reviere, 1990).

Existen también, altas concentraciones de *zinc* y *crystaloides*, tal como el cristaloides o cuerpo de inclusión Charcot-Bottcher en el humano y verraco de los cuales se desconoce su función (De Reviere, 1990; De Kretser, 1994), los cristaloides del cerdo son más pequeños que aquellos vistos en el humano y consisten de filamentos paralelos de 5µm de diámetro. Tales inclusiones filamentosas son de dos tipos principales, originalmente clasificados de acuerdo a su longitud y grosor. Lubarsch descubrió largos cristales de más de 25µm de longitud dentro del citoplasma, los cuales llamó cristales de Charcot-Bottcher. Later Spangaro observó muchos cristales muy pequeños dentro de la célula y todas esas inclusiones son ahora referidas colectivamente como los cristales de Charcot-Bottcher. Fácilmente visible por el microscopio de luz, sus rasgos ultraestructurales pueden ser resumidos como sigue: (a) perinuclear, frecuentemente orientados oblicuamente en relación



a la lámina basal; (b) alargados, de forma fusiforme, arriba de 5  $\mu\text{m}$  de ancho y de 10 a 25  $\mu\text{m}$  de largo; (c) forma simples bifurcaciones, entre las cuales se establece el glucógeno o filamentos de 10nm; (d) consiste de filamentos paralelos densos de aproximadamente 15 $\mu\text{m}$  de diámetro, que en cortes de secciones exhibe contornos serpentinados o en zig-zag; (e) sus extremos como espiga terminal podría ser continua con 9 a 12 nm de filamentos citoplásmicos. Estos filamentos contienen actina y de éste modo podrían derivarse del citoesqueleto de la misma célula (De Kretser, 1994).

Los epitelios contienen cantidades variables de cuerpos densos usualmente referidos como colecciones de lisosomas, cuerpos multivesiculares y vacuolas heterofágicas. Frecuentemente estos componentes del sistema lisosomal son secuestrados en regiones profundas de la célula, donde flanquean al núcleo, pero alternativamente, éstos son vistos en grandes cantidades dentro de la célula hacia arriba del tronco columnar, donde se ubican para finalizar el desarrollo de las espermatidas (De Kretser, 1994).

Aún cuando el retículo endoplásmico está relativamente esparcido en el citoplasma, las células de Sertoli tienen lisosomas secundarios asociados con la digestión de cuerpos residuales, pero la cantidad de *lipofuscina* es muy baja (Johnson, 1999).

Escasa atención ha sido otorgada a la presencia de capas de membranas lisas usualmente confinadas a los aspectos basales del epitelio del humano. Por la presencia de complejos semejantes a un poro que forman una construcción de puentes entre los contornos paralelos de éstas membranas, son comparados a una lamina anillada que se ha descrito en otros tejidos. Aunque su función en la célula permanece desconocida, la lamina anillada ha sido implicada en el transporte del RNA desde el núcleo, síntesis proteica y el sitio de síntesis de tubulina o polimerización de microtúbulos (Bardin, 1994).

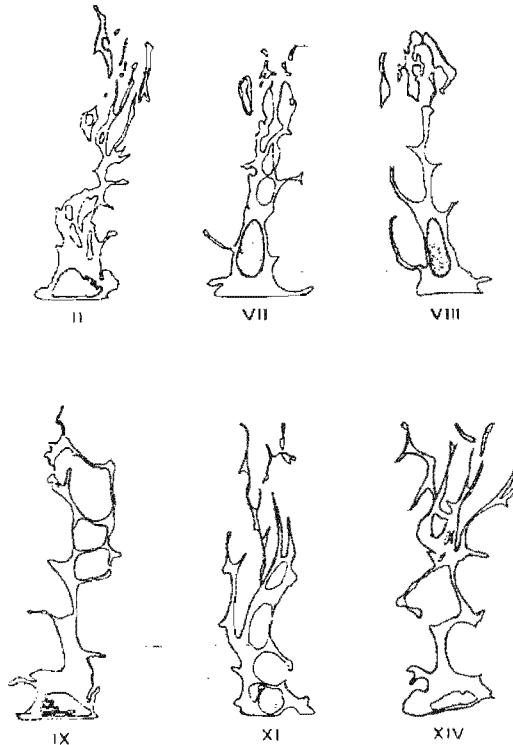
Mientras se quiera ser expectante para una célula que está obligada en alterar su forma radicalmente, de acuerdo a los eventos siempre cambiantes dentro del epitelio seminífero, todas las células de Sertoli hasta ahora estudiadas están dotadas con un elaborado citoesqueleto, simultáneamente con elementos contráctiles ocupando casi todas partes de la matriz citoplásmica. Aquel componente responsable de mantener la forma celular y la redistribución del gel citostólico de la matriz, es atribuido a un frecuentemente extenso y enredado sistema de microfilamentos (6-7 $\mu\text{m}$ ) y filamentos intermedios (10 $\mu\text{m}$ ). Simultáneamente estos sistemas de filamentos densos están pensados para jugar un mayor papel en el soporte estructural de la célula, cuando la rigidez es necesaria y otras veces ésta es pensada en los cambios mecánicos en la viscosidad de la matriz celular, permitiendo variables grados de plasticidad que son esenciales para acomodar la movilidad constante de las células germinales. Estos filamentos son ricos en actina y vimentina. Los microtúbulos son abundantes en las criptas profundas que acomodan a las espermatidas alargadas, pero están ausentes en las regiones asociadas con células germinales avanzadas. Corriendo paralelos al eje longitudinal del tronco de la célula de Sertoli, los microtúbulos también conforman el contorno de las cabezas de las espermatidas en desarrollo. Los microtúbulos son candidatos potenciales para el transporte intracelular de los organelos y proporciona el motor a los caminos por translocación de las células germinales dentro del epitelio seminífero (De Kretser, 1994).

son candidatos potenciales para el transporte intracelular de los organelos y proporciona el motor a los caminos por translocación de las células germinales dentro del epitelio seminífero (De Kretser, 1994).

Tanto el núcleo como el citoplasma tienen la propiedad de cambiar su forma de acuerdo a la abundancia o escasez de las espermátidas (fases de la espermatogénesis) que se encuentran en su vecindad, permitiendo de ésta forma el movimiento progresivo durante el desarrollo de los espermatozoides hacia la superficie luminal de los túbulos (De Alba, 1985; Wheeler, 1987; Russell, 1999; Junqueira, 2000) (*Figura 7*).

Las células de Sertoli presentan numerosas invaginaciones citoplasmáticas, donde se localizan las células de la línea espermatogénica. Al contrario de los espermatogonios, las células epiteliosustentaculares nunca se dividen durante el periodo reproductivo y no obstante pueden ser consideradas como parte integral del epitelio germinal, son células somáticas y no componentes del germoplasma (De Alba, 1985; Junqueira, 2000). Son muy resistentes a condiciones adversas como infecciones, desnutrición y rayos X, que afectan más fácilmente a las células de la línea espermatogénica (Junqueira, 2000).

Fig. 7. Trazos de la membrana plasmática de células de Sertoli individuales en varios estados del ciclo espermático de la rata. La superficie de cada célula de Sertoli fue identificada con montajes de micrografía electrónica y enfatizando la compleja y variada forma de la célula de Sertoli (De Kretser, 1994).



#### 4. Técnicas de Estudio

Por un largo tiempo, las células de Sertoli fueron cultivadas en cápsulas plásticas que favorecerían la formación de una monocapa celular aplanada, pero representaba un inconveniente, una de las mayores características de su función, la barrera hemato-testicular, basada en las uniones inter-Sertoli, se perdía completamente (Santemma, 1989).

El cultivo de estas células ha sido el principal método para estudiar en forma aisladas sus funciones. Son frecuentemente aisladas por separación de los túbulos seminíferos desde el tejido intersticial, continuando por digestiones enzimáticas y entonces eliminación de células germinales contaminantes por shock hipotónico. Las células de Sertoli adelgazan en cultivos, pero conservan algún grado, de su forma natural si son cultivadas sobre un material de tipo lamina basal artificial. Son más fácilmente aisladas de ratas de entre 15 y 20 días de edad. Su aislamiento y cultivo de animales viejos es raramente practicado. La mayoría de los conocimientos acerca de sus respuestas bioquímicas se derivan desde cultivos de células obtenidas desde animales inmaduros (Russell, 1999). Se creó un sistema de cultivo bicameral que permite hacer un ambiente dual. Este sistema de cultivo de doble cámara es de ayuda para obtener células de Sertoli que más se asemejen a aquellas *in vivo* (Santemma, 1989).

Pueden ser estudiadas en mamíferos con reproducción estacional. Aquí, el testículo periódicamente regresa y la regresión es seguida por recrudescencia justo antes a la reproducción estacional. La actividad cíclica de las células de Sertoli es probablemente en respuesta al estímulo hormonal cíclicamente cambiante (Russell, 1999).

#### 5. Fisiología

El número de células de Sertoli en un individuo es importante porque está relacionada al número de espermatogonias, al número de espermátidas o proporción de la producción de espermatozoides en cameros, toros, caballos, ratas y humanos (Johnson, 1991; Johnson, 1999). Esta relación existe porque su función es dar soporte estructural y nutricional a las células germinales, secretando lactato y piruvato (Santemma, 1989; Griswold, 1999), también, lleva a cabo la espermiación de las espermátidas maduras, dar movimiento de las células germinales jóvenes, fagocitosis de las células germinales degeneradas y de cuerpos residuales por espermatozoide liberado, secreción de fluido luminal y proteínas, formación de la barrera hematotesticular y comunicación intercelular (Johnson, 1991; Wrobel, 1998; Johnson, 1999) (**Figura 8**).

Las células de Sertoli principalmente proveen factores críticos necesarios para la progresión sucesiva y diferenciación de las células germinales, estos factores críticos pueden ser de soporte físico, barreras o complejos de unión o estimulación bioquímica en la forma de factores de crecimiento o nutrientes. Algunas de las funciones pueden no ser requerimientos absolutos para la espermatogénesis pero algo pudieran influenciar la eficiencia del proceso. Hay tres principios básicos que subrayan el papel obligatorio de las células de Sertoli durante la espermatogénesis. Primero, la condición en la cual los testículos contienen células germinales nunca ha sido reportada y el desarrollo de las células germinales en cultivos independientes de cocultivos con células de Sertoli es

muy limitada. El segundo principio es que su función y eficiencia parecen estar limitadas al número de células germinales. El tercer principio básico es que el requerimiento endocrino para la espermatogénesis de los vertebrados más altos es un resultado de la acción de hormonas reproductivas, como la hormona folículo estimulante y testosterona, sobre la célula de Sertoli y no sobre la célula germinal (Griswold, 1999).

Esta extensamente probado que los epitelocitos participan en la regulación de la espermatogénesis (Singh, 1989). Entonces, engloban tres funciones principales: **Primera**. Proporcionar soporte y controlar la nutrición de los espermatozoides en formación mediante la regulación del paso de los nutrientes aportados por la sangre, funcionando como células nodrizas y suministrando también soporte estructural a las células espermatogénicas en desarrollo (Wheater, 1987; Junqueira, 2000; Ko, 2003).

Las espermátidas tienen estrechas relaciones funcionales y estructurales con las células de Sertoli. Por ejemplo, las espermátidas alargadas están profundamente insertadas dentro de invaginaciones vistas en el citoplasma supranuclear. Sus funciones, las cuales están mantenidas por hormonas esteroideas secretadas por las células de Leydig, son esenciales para el mantenimiento de la espermatogénesis. La dependencia de las espermátidas sobre las células de Sertoli y sus interacciones específicas de estado podrían explicar el fracaso hasta ahora para mantener la espermiogénesis in vitro (Johnson, 1999).

**Segunda**. Fagocitar y digerir, gracias a sus lisosomas, los restos de citoplasma que se desprenden de las espermátidas, durante la espermiogénesis (Wheater, 1987; Bardin, 1994; Junqueira, 2000). Como otras células nodriza en el cuerpo, funcionan para proporcionar material para estimular el crecimiento, pero también tienen la función de remover sobrantes. Las células germinales degeneradas y los cuerpos residuales después de que las espermátidas son liberadas (espermiación) son fagocitados por los epitelocitos. De éste modo están equipadas con una desarrollada fuente de sistema digestivo citoplásmico capaz de digerir materia de partículas extrañas y participando en la remoción de células germinales degeneradas (Johnson, 1999). Alternativamente, si el movimiento de la célula germinal es impedido y las células germinales son retenidas en el epitelio por un período de tiempo prolongado, estas envejecen y son removidas por las células de Sertoli por la vía de la fagocitosis, siendo ésta, una razón de infertilidad decisiva en el macho (Cheng, 2002) (*Figura 8*).

La formación de lisosomas y su participación en la disolución de cuerpos residuales mantiene de éste modo un vínculo entre las actividades endocíticas y fagocíticas de la célula de Sertoli. La endocitosis absorbente ocurre principalmente durante el estado VII, cuando varias vacuolas fagocíticas forman un cierre a las cabezas de las espermátidas tardías, donde ellas probablemente juegan un papel en la reabsorción de los complejos tubulobulbares que sujetan las cabezas de las espermátidas hacia los procesos citoplásmicos apicales de las células de Sertoli (Griswold, 1999).

**Tercera**. Secretan un líquido cuya corriente transporta a los espermatozoides (Junqueira, 2000; Ko, 2003). Tras la eyaculación, los espermatozoides se vuelven móviles y también capaces de fecundar el óvulo, un proceso denominado maduración. Las células sustentaculares y el epitelio del epididimo secretan un líquido nutritivo especial que es

eyaculado junto con los espermatozoides, éste líquido contiene hormonas (testosterona y estrógenos), enzimas y nutrientes especiales que son esenciales para la maduración del espermatozoide (Guyton, 2001). Las células de Sertoli y las células germinales regulan recíprocamente su secreción cíclica de proteínas a lo largo del túbulo seminífero. Las células mioideas amplifican este proceso transformando factores de crecimiento, moduladores humorales y matriz extracelular. Las células de Sertoli tienen vías de baja resistencia para el transporte intercelular de metabolitos celulares, que coordinan la actividad del epitelio seminífero (Hafez, 2002).

Varias proteínas circulantes se introducen por el compartimiento basal a las células de Sertoli a través de mecanismos endocrinos: transferrina, proteína fijadora de andrógeno (ABP), factores de crecimiento semejantes a la insulina (IGF) y factores de crecimiento relacionados. Las proteínas secretadas por las células de Sertoli en el compartimiento adluminal se internalizan por un mecanismo paracrino a las células germinales. Los espermatoцитos y las espermátidas tempranas son el blanco preferido de proteínas de las células de Sertoli (Hafez, 2002).

#### 6. Barrera Hemato-Testicular (BTB-Blood Testis Barrier).

Una región particular de una célula de Sertoli tiene contacto con otras células de Sertoli adyacentes a ésta. Este contacto ocurre cerca de la base del túbulo en la región llamada tradicionalmente barrera “hemato-testicular”, ésta región es más ampliamente referida como la barrera de la célula de Sertoli. La barrera parece ser inmunoprotectora contra autoantígenos que progresivamente se desarrollan sobre la superficie de las células germinales conforme ellas maduran. La barrera garantiza que la mayoría de los nutrientes y los factores inhibitorios/estimuladores lleguen a las células germinales a través de la célula de Sertoli o sean modificadas en su paso hacia las células germinales (Johnson, 1991; Hess, 1999; Russell, 1999; Jounson, 1999).

Por un largo tiempo los epitelioцитos sustentaculares fueron cultivados sobre cápsulas de plástico que favorecían la formación de una capa de células aplanadas. Este modelo *in vitro* fue muy usado para estudiar el funcionamiento de la célula, pero se presentaba un inconveniente mayor: una de las más importantes características de la función ésta célula, la barrera hemato-testicular basada en las uniones inter-Sertoli (Santemma, 1989). La mayoría de los espermatoцитos primarios pasan a través de éstas uniones intercelulares sin interrumpir la barrera hemato-testicular fisiológica. Tal paso está probablemente consumado por una abertura semejante a un zipper de esas uniones, las cuales se cierran debajo de los espermatoцитos antes que ellos alcancen el compartimiento adluminal (Johnson, 1991; Wrobel, 1998).

Los túbulos seminíferos no son penetrados por vasos sanguíneos ni linfáticos. Además, las células germinales en desarrollo dentro de ellos están protegidas contra cambios químicos en la sangre por la barrera de permeabilidad especializada (Hafez, 2002). La barrera hemato-testicular previene la entrada selectivamente de muchas sustancias, al compartimiento adluminal en donde el proceso vital de la meiosis y la espermiogénesis tienen lugar en un microambiente controlado (Bardin, 1994; Wrobel, 1998; Russell, 1999;

Hafez, 2002). Esta barrera hemato-testicular tiene dos componentes principales: a) la barrera completa o parcial de las células mioideas que rodean el túbulo y b) las uniones particulares entre células de Sertoli adyacentes (Hafez, 2002). Los epiteliocitos forman numerosos tipos de uniones con las células germinales. Estas son principalmente uniones de tipo edherente y comunicante. Algunas inusuales relaciones de célula a célula entre las células de Sertoli y las células germinales se establecen solamente en el testículo (Bardin, 1994; Johnson, 1991; Russell, 1999).

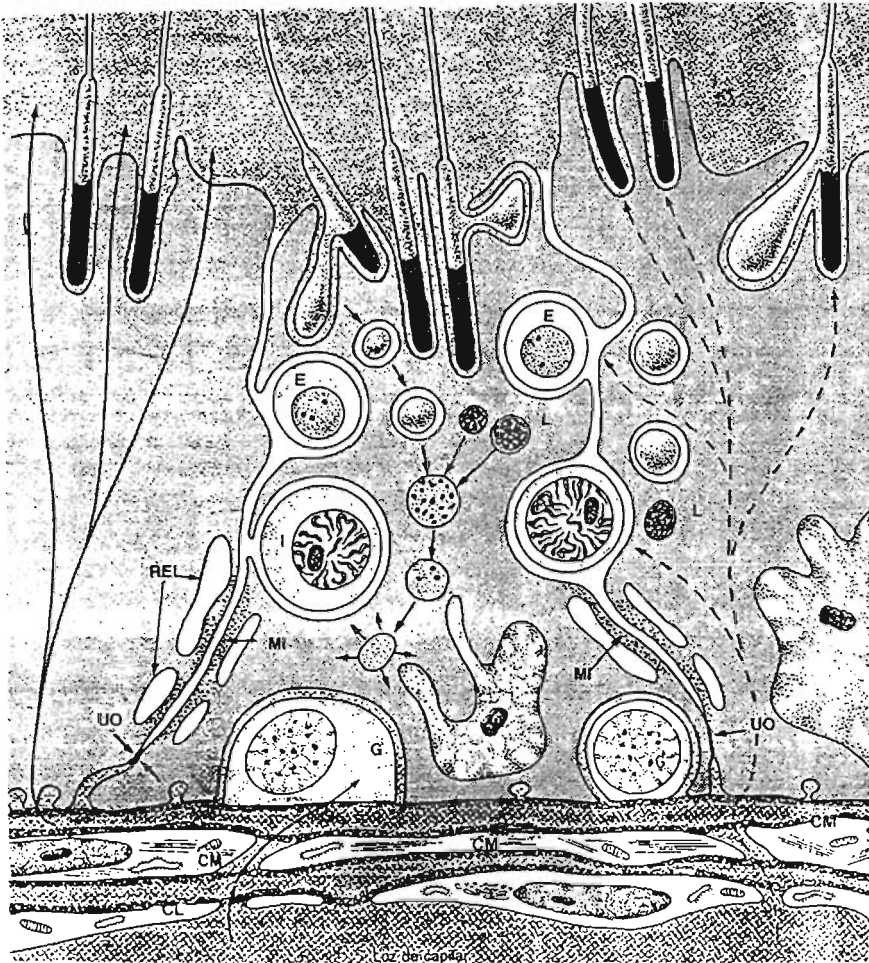


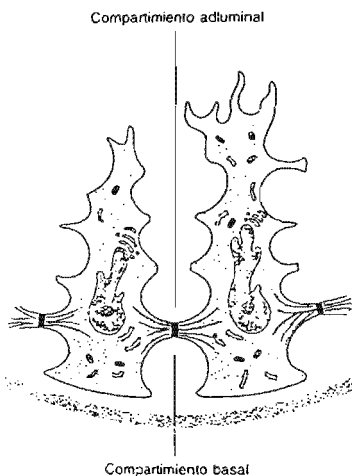
Fig. 8. Esquema que ilustra la posición y funciones de los epiteliocitos sustentaculares. Las líneas continuas representan el flujo de líquido hacia la luz del túbulo seminífero. En la célula de en medio se observa la captación y digestión por los lisosomas (L), de fragmentos liberados por las espermátidas durante la espermiogénesis. las flechas discontinuas muestran la transferencia de nutrientes de los capilares sanguíneos a las células de la línea espermatogénica. MI, microfilamento de actina; REL, retículo endoplásmico liso; G, espermatogonia; I, espermatozoides; E, espermátida; CM, célula mioide; CE, célula endotelial (Junqueira, 2000).

## 7. Regulación Celular.

La célula de Sertoli es un principal ejemplo de una célula con especializaciones estructurales regionales que cumplen una variedad de tareas. La célula de Sertoli simultáneamente se asocia con un mínimo de cuatro diferentes tipos de células germinales, con la lámina basal y con otras células de Sertoli. Es obvio que éstas especializaciones regionales reciben ordenes desde un comando y centro de control para hacer diferentes tareas al mismo tiempo (Griswold, 1999).

Los estudios morfológicos practicados en testículos en los años 70's y 80's tienen identificados muchos tipos de uniones comunes. Los tres tipos de uniones establecidas en el testículo son como sigue: uniones de cierre, de sujeción y de *comunicación estrecha* (GJ-Gap Junction). Las *uniones herméticas u oclusivas* (TJs-Tight Junction) ocupan la mayor porción apical de las células, seguidas por las *uniones adherentes o de anclaje* (AJs-Adherent Junction) y después por una hilera paralela de *desmosomas*. En conjunto estas estructuras forman el "Complejo de Unión"(Cheng, 2002). Se piensa que la principal barrera de permeabilidad entre la sangre y los testículos son las uniones complejas entre las células de Sertoli adyacentes. Estas uniones situadas cerca de la base celular, contienen múltiples zonas de adhesión (*uniones estrechas*) donde las membranas opuestas se fusionan (Hafez, 2002). Las uniones oclusivas dividen los túbulos seminíferos en dos compartimientos distintos: 1) un compartimiento basal, que contiene espermatogonios y espermatocitos preleptotene y 2) un compartimiento adluminal, que contiene las etapas más avanzadas de los espermatocitos y las espermátidas, el cual se comunica libremente con la luz del túbulo (Johnson, 1999; Dellmann, 1999; Hafez, 2002) (**Figura 9**).

Fig. 9. Esquema de dos células de Sertoli unidas por uniones oclusivas para formar los dos compartimientos funcionales del testículo: el compartimiento basal y el compartimiento adluminal (Junqueira, 2000).



Sea cuál fuere la organización histológica del testículo, alguna forma de especialización de unión intraepitelial siempre localizada en las células somáticas rodeando a las células germinales, sugiere que la barrera hemato-testicular es un antiguo rasgo de importancia central para el desarrollo de gametos viables. La formación de uniones celulares inter-Sertoli coincide con el cese de la proliferación de la célula sustentacular en el testículo inmaduro. También se ha sugerido que el proceso de maduración meiótica y diferenciación de las espermatidas ocurre en un microambiente adluminal inmunológicamente privilegiado por la vía de las uniones celulares herméticas inter-Sertoli. El aislamiento de éstas células germinales por la barrera hemato-testicular restringe el escape de antígenos o previene la entrada de anticuerpos o células inmunes desde el sistema vascular (De Kretser, 1994).

El componente efectivo de la barrera hemato-testicular reside dentro del epitelio seminífero. A la luz de ésta evidencia, la examinación de las características ultraestructurales del epitelio seminífero reveló la presencia de varios tipos de uniones herméticas o estructuras semejantes a *desmosomas* asociadas con la membrana plasmática de la célula sustentacular. Los rasgos estructurales de las uniones inter-Sertoli han sido documentadas en excelentes descripciones y están resumidas como sigue: (a) las especializaciones de unión entre los epiteliocitos son particularmente prominentes en las regiones basales y usualmente ocurren cuando ésta célula adyacente encuentra procesos citoplásmicos, (b) algunas veces en la base del epiteliocito adyacente a la lámina basal el encuentro de dos procesos citoplásmicos de éstas células yuxtapuestas pueden estar desprovistas de la especialización de unión, (c) la localización basal de las especializaciones de unión circunscriben los márgenes laterales de los epiteliocitos, (d) normalmente un espacio de 15 a 20µm separan las hojuelas externas de la membrana de la célula de Sertoli adyacente, (e) ocasionalmente este espacio es reducido a 2µm similar a la unión gap tradicional o nexos de otras células (De Kretser, 1994).

Durante los primeros estados de la espermatogénesis las espermatidas se posicionan centralmente inmediatamente a la luz de los túbulos seminíferos, rodeadas por procesos de citoplasma del epiteliocito sustentacular. A este tiempo pequeñas uniones punteadas como desmosomas ocurren con las células adyacentes (De Kretser, 1994). El paso de los espermatocitos leptotenos desde el compartimiento basal hacia el adluminal es asistido por las uniones semejantes a *desmosomas*, también llamadas uniones *adherentes*, caracterizadas por la presencia de actina (De Reviere, 1990).

a) *Uniones Herméticas (TJ-Tight Junction)*.

#### - Regulación de las Dinámicas de la TJ.

Tres teorías se fundamentan en la literatura explicando los eventos de desensamble y reensamble de la TJ durante la espermatogénesis. Primera, la "*Teoría del Zipper*", la cual propone que las TJs inter-Sertoli o las zonas ocluidas, consisten en fibrillas que encierran completamente el dominio basal de las células de soporte, rompiendo debajo para acomodar el canal de los espermatocitos preleptoteno o leptoteno, en tanto que nuevas zónulas de oclusión se reforman bajo la migración de los espermatocitos preleptoteno.



Segunda, la "*Teoría del compartimiento celular intermedio*", propuesta por Russell, que sugiere la presencia de un compartimiento ocupado por células germinales en tránsito, del compartimiento basal hacia el adluminal. Sin embargo, ambas teorías no aclaran cuales son las causas de la disociación y asociación de las TJ fibrilares para facilitar el movimiento de los espermatoцитos preleptoteno y leptoteno a través de la BTB. Tercera, la "*Teoría stress*" o "*Teoría de remoción repetitiva de segmentos de la membrana*", propuesta por Pelletier y Byers, sugieren que las continuas migraciones hacia arriba de un gran número de células germinales producen un stress contra la zónula de oclusión del epitelio. Esta teoría, sin embargo, no aclara qué ocasiona y facilita el movimiento hacia arriba de las células germinales (Cheng, 2002).

Los diferentes caminos de transducción de señales están implicados en la regulación de las dinámicas de la TJ. Estos incluyen *proteín-cinasas*, *proteín-fosfatasa*,  $Ca^{2+}$  *intracelular*, *proteínas G*, *calmodulina*, *cAMP* y *fosfolipasa C* (Fig. 10). Basados en éstos caminos, dos modelos bioquímicos han sido propuestos y probados para explicar cómo las pequeñas moléculas, tales como los ácidos grasos, aminoácidos, glucosa y la IgG, pueden atravesar las TJs epiteliales durante la absorción de nutrientes y respuestas inflamatorias (Cheng, 2002):

**MODELO INTERRUPTOR DE  $Ca^{2+}$ .** Se conoce que la barrera de la TJ puede separarse y resellarse por manipulación de  $[Ca^{2+}]$  en un medio de cultivo, demostrando inequívocamente que el  $[Ca^{2+}]$  juega un papel muy crítico en la regulación de las dinámicas de la TJ en el testículo (Cheng, 2002).

**MODELO DE VACIADO-LLENADO DE ATP.** Durante el ensamble y desensamble de la TJ, el citoesqueleto de actina sufre de gran polimerización y despolimerización, los cuales son por sí mismos, eventos ATP-dependientes. Cuando el ATP es vaciado desde el sistema, la ZO-1 llega a asociarse con las proteínas del citoesqueleto, tales como la fodrina. Esta, a su vez, arrastra a la ZO-1 fuera de los sitios de la TJ causando fugas de la TJ. En el llenado del ATP, la asociación entre la ZO-1 y la fodrina se destruye, permitiendo que las moléculas ZO-1 retrocedan hacia los sitios de la TJ, resellando la TJ (Cheng, 2002).

Existen otros caminos de regulación de las dinámicas de la TJ como: *la regulación por el AMPc* (Fig. 10), que tiene un efecto bifásico sobre el ensamble y mantenimiento de las TJs en las células de Sertoli in vitro. De 4-20  $\mu$ M, la dibutilil AMPc (DbAMPc) estimula el ensamble de la permeabilidad de la barrera de la TJ, mientras que de 100-500  $\mu$ M inhibe el ensamble y mantenimiento de la TJ, ilustrando con esto que la funcionalidad de la TJ en el testículo esta regulada, al menos en parte, por un camino AMPc-dependiente. Los niveles intracelulares del AMPc están regulados por proteínas G, las cuales se localizan en el sitio de las TJs, sugiriendo que hay un camino mecánico local hacia las TJs para alterar el nivel del AMPc (Cheng, 2002).

El siguiente camino de regulación de las dinámicas de la TJ esta bajo el control de las *citocinas*, *proteasas e inhibidores de proteasas* (Fig.10). Las células germinales y las de Sertoli son conocidas por producir citocinas tales como, la TGF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , factor de crecimiento nervioso (NGF), factor de crecimiento de fibroblasto (FGF), IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , IFN- $\gamma$  y TNF- $\alpha$ . La inmunolocalización de la TGF- $\beta$ 1,  $\beta$ 2,  $\beta$ 3 esta presente en las células de

Sertoli y en las germinales. La TGF- $\beta$ 3 está localizada predominantemente cerca del compartimiento basal del epitelio seminífero tanto en los epitelocitos como en los espermatocitos primarios, esta citocina posiblemente regula la traslocación de los espermatocitos preleptoteno y leptoteno a través de la BTB por perturbación de las TJs. Otros estudios ilustran que la TGF- $\beta$  induce el rompimiento de la permeabilidad de la barrera de la TJ, mediada por la vía del camino de la MEKs/p38-MAP kinasa. Otros estudios han demostrado que las proteasas y los inhibidores de proteasas están implicados en el ensamble de las TJ/AJ. Por ejemplo, fué demostrado que la presencia de un inhibidor de proteasa, tal como la cloroquina, realmente facilita el ensamble de una "muy estrecha" barrera de la TJ. En suma, FGF básica y la TGF- $\beta$  pueden afectar la expresión y producción del activador de plasminógeno (una serina proteasa). Esto demuestra que el desarme y ensamble de la barrera de la TJ está asociada con una inducción pasajera de proteasas e inhibidores de proteasas y sus actividades deberían estar coordinadas para mantener la integridad de la BTB (Cheng, 2002).

Debido a que la matriz extracelular (ECM) y las células mioides peritubulares tienen una intimidad morfológica estrecha con las TJs, se postuló que éstas también regulan las dinámicas de la TJ. En realidad, las células mioides peritubulares en la lámina basal son conocidas por regular las células de Sertoli por la vía de sus productos secretados (Cheng, 2002).

#### **- Funciones de las TJs en el Testículo.**

Tres funciones pueden atribuirse a las TJs. *Primera*, formadas las TJs entre las células adyacentes, juegan un papel esencial en la formación de compartimientos para crear una barrera para distinguir la difusión de solutos completando la senda paracelular. *Segunda*, las TJs establecen una frontera entre los dominios apical y basolateral de una célula cuya diferencia está en la composición de la proteína y el lípido. Estas en su oportunidad, establecen y mantienen una polaridad celular epitelial y endotelial. Estos dos roles de las TJs se conocen como las funciones de "barrera" y "defensa", respectivamente. *Tercera*, la BTB también establece una barrera inmunológica que secuestra determinantes antigénicos que residen sobre las superficies de las células germinales desde la circulación sistémica. Esta barrera también excluye la entrada de inmunoglobulinas y linfocitos circulantes hacia el compartimiento adluminal (Cheng, 2002) (*Figura 10*).

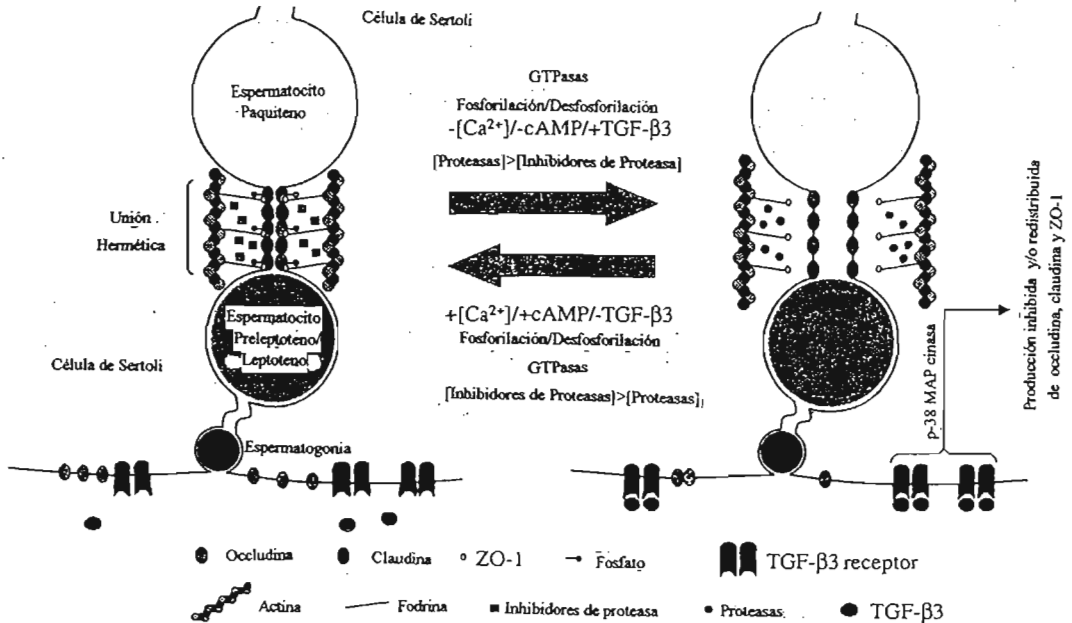


Fig. 10 Modelo molecular de las dinámicas de TJ de la célula de Sertoli en donde las múltiples moléculas que interactúan con cada una para regular la entrada y cierre de la barrera de TJ que constituye la BTB. A la izquierda, la barrera de TJ está cerrada. A la derecha, la barrera de TJ está abierta. Las dinámicas de la unión hermética en el testículo están reguladas por diferentes grupos de moléculas y/o estados funcionales de las proteínas, las cuales incluyen GTPasas, proteasas/inhibidores de proteasas, fosforilación proteínica, calcio intracelular y niveles de cAMP y citocinas como la TGF- $\beta_3$ . Por ejemplo, la fosforilación reducida de la ocludina ocasiona la desfosforilación de las moléculas de ocludina para moverse hacia la región basolateral de la membrana, lejos de los sitios de TJ, destruyendo la barrera-TJ (ver panel derecho). Así mismo, un incremento en las proteasas también favorece la destrucción de la TJ (ver panel derecho) pero un incremento en los inhibidores de proteasas favorece el cierre de la barrera TJ (ver panel izquierdo) (Cheng, 2002).

### - Componentes Moleculares de las TJs.

Morfológicamente, las TJs forman un sello continuo circunferencial cercano al ápice de las células endoteliales y epiteliales, más lejanas de la lámina basal, mientras que en el testículo, están localizadas en el compartimiento basal del epitelio seminífero adyacente a la base de la membrana, la cual es una forma modificada de la matriz extracelular (ECM) en el testículo. Por lo tanto, la ubicación relativa de las TJs, de las AJs y de la ECM en el testículo están en opuesto orden comparado con otro epitelio. Hay tres clases de proteínas de la membrana integral de la TJ: *occludinas*, *claudinas* y *moléculas de adhesión y unión (JAM)* (Cheng, 2002) (Figura 11).

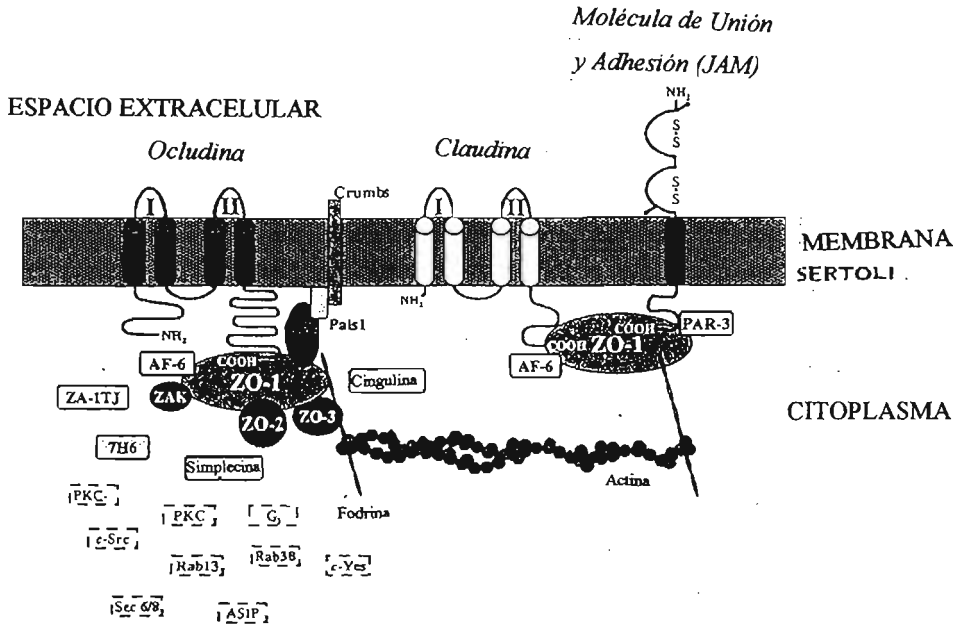


Fig. 11. Modelo común sobre la estructura molecular de las uniones herméticas y las proteínas constituyentes en el testículo. Un dibujo que ilustra la arquitectura molecular de las TJs. Sólo tres clases de proteínas de la membrana integral -TJ, llamadas, occludina, claudina y JAM, son conocidas a la fecha. Cada proteína de TJ de la membrana integral tiene distintivos dominios transmembrana, extracelular e intracelular. La COOH terminal de la occludina está asociada con la ZO-1 intracelularmente, la cual a su vez se asocia con ZO-2, ZO-3, AF-6, ZAK y otras. (Cheng, 2002).

**FAMILIA OCCLUDINA.** La occludina es un solo polipéptido 60 a 65 kDa y una molécula  $Ca^{2+}$  de adhesión intercelular independiente. Esta es también una proteína de la membrana integral de la TJ putativa que contribuye a la defensa y barrera de las funciones de las TJs. Sin embargo, solamente la occludina no puede generar una honrada barrera de la TJ. Estudios han demostrado que tanto las occludinas como las claudinas contribuyen a mantener la función de la TJ en las células epiteliales. Estudios en microscopio electrónico pueden demostrar que la occludina está concentrada dentro de las fibrillas de la TJ fosforilada en ambos residuos Ser/Tre y Tir. Es posible que los espermatoцитos proleptoteno y leptoteno sean la causa de los estímulos que regulan las dinámicas de las TJs para inducir los cambios localizados en la fosforilación de la occludina en las fibrillas de la TJ. Otros estudios demuestran que dos moléculas de occludina adyacentes son capaces de la oligomerización lateral, la cual a su vez forma engranes en las fibrillas de la TJ, tal vez dentro de la bicapa membranosa. Se ha reportado que la occludina y la occludina 1B están establecidas en el testículo del ratón y de la rata pero no en las células de Sertoli del cuyo y del humano, sugiriendo que el testículo está equipado con otras proteínas de la membrana integral de la TJ aún por ser identificadas, para mantener la integridad y función de la BTB.

Tomando colectivamente los resultados de los estudios se ilustra que todavía falta mucho trabajo por hacer para definir el papel de la occludina en la regulación de las dinámicas de la TJ en el testículo (Cheng, 2002).

**FAMILIA CLAUDINA.** Las claudinas son otras proteínas de la familia integral de la membrana de la TJ, con una aparente masa molecular de ~22 kDa que confiere a la TJ su funcionalidad y adherencia celular a las células epiteliales. Las claudinas comparten una topología molecular similar con las occludinas, aunque son proteínas completamente distintas. Cada molécula de claudina consiste de un corto dominio citoplásmico NH<sub>2</sub>-terminal, dos puntos extracelulares, cuatro dominios putativos transmembrana y un gran dominio citoplásmico COOH-terminal. Las claudinas se han demostrado localizadas en las fibrillas de la TJ, siendo el principal componente de las proteínas de la TJ responsables de construir los elementos que forman el sello en las TJs. La fosforilación de la proteína pasa a jugar un papel muy importante en el ensamble de la TJ. Al menos 24 claudinas han sido identificadas en las TJs en diferentes epitelios. Siete diferentes claudinas se establecen en el testículo (Claudina-1,-3,-4,-5,-7,-8, y -11). La expresión de la claudina-11 en el testículo parece estar limitada al epitelio sustentacular. Por otra parte, la expresión in vitro de la claudina-11 de la célula sustentacular del ratón es inhibida por la hormona foliculo estimulante y el factor de necrosis tumoral (TNF)- $\alpha$ . Esto ilustra el significado de la claudina-11 en la espermatogénesis (Cheng, 2002).

**JAM.** Las JAM son el tercer tipo de proteínas de la membrana integral de la TJ identificadas en las TJs por usar los anticuerpos monoclonales contra las células endoteliales y están localizadas en los límites intercelulares, tanto epiteliales como endoteliales. Se conocen al menos tres moléculas de JAM, designadas como JAM-1, JAM-2 y JAM-3. La masa molecular de la JAM se establece en diferentes rangos de tejido desde 36 a 41 kDa, posiblemente el resultado de la heterogenicidad de carbohidrato. A diferencia de las occludinas y las claudinas, las JAM exhiben una estructura distinta. Cada molécula de JAM consiste de un dominio putativo intracelular, un dominio transmembrana y un dominio extracelular. El dominio extracelular esta compuesto de dos puntos semejantes a la inmunoglobulina formando una V con dos cadenas de disulfuro entrelazadas. Las JAM están reportadas para facilitar la adhesión homotípica célula-célula. La distribución de las JAM es crucial para la migración transendotelial de leucocitos a sitios inflamatorios en respuesta a las citocinas proinflamatorias. Sin embargo, falta por ser determinado si las JAM-1 y JAM-2, quienes están establecidas en el testículo, pueden realmente facilitar la trans migración de los espermatozoides preleptoteno y leptoteno a través de la BTB en el testículo (Cheng, 2002).

**ZO-1.** Proteínas citoplásmicas vinculadas a las proteínas de la membrana integral de la TJ del citoesqueleto. La ZO-1, ZO-2 y la ZO-3 son miembros de los transductores de señal de la familia de las proteínas guanilato-cinasa asociadas a la membrana (MAGUK). La ZO-1, un polipéptido 225-kDa, fué la primera identificada en una fracción de membrana de los hepatocitos. También se localizó en los complejos de unión de los epitelios. En el testículo maduro la ZO-1 está asociada con las especializaciones de la membrana de unión ocluyente y no ocluyente, tales como las especializaciones filamentosas de la subsuperficie que revisten a las células germinales, sugiriendo que ésta proteína no está restringida a las TJs. La ZO-1 también está implicada en incrementar el eslabonamiento entre el

citoesqueleto de la submembrana y los componentes de la membrana integral de la TJ en vez de contribuir a las propiedades de sellado de la TJ. Las claudinas y las occludinas se unen al dominio PDZ de la ZO-1, indicando que la ZO-1 es un vínculo proteínico conectando la transmembrana de las proteínas al citoesqueleto (Cheng, 2002).

**CINGULINA.** Es la primera proteína de TJ identificada por usar anticuerpos monoclonales y se establece en el testículo de la rata y el ratón. La cingulina es una fosfoproteína 140 kDa establecida hacia la placa citoplásmica de las TJs de las células endoteliales y epiteliales y esta más lejos del sitio de la TJ que la ZO-1. No obstante, la cingulina es esencial para conferir función a la TJ para mantener una barrera impermeable. Estudios de inmunoprecipitación *in vitro* demuestran que la cingulina interactúa con otras proteínas de la TJ, en particular con ZO-1, ZO-2, ZO-3, AF-6 y miosina, sugiriendo que pudiera ocurrir una interacción *in vivo* de la cingulina con la ZO-1 y ZO-2. Estudios con microscopía inmunofluorescente han localizado a la cingulina en los mismos sitios de la ZO-1 en el compartimiento basal cerca de la BTB en testículos de la rata y el ratón. Además, la cingulina está también establecida en los sitios de contacto de la célula de Sertoli-espermátida consistentes con esta localización a la especialización ectoplásmica (Cheng, 2002).

**SIMPLECINA.** La simplecina es una proteína 150 kDa, y ha sido localizada en el sitio de las TJs en epitelios polarizados, así como también en las células de Sertoli. No comparte ninguna homología con las proteínas MAGUK ni con las ZO (Cheng, 2002).

#### **- Interacciones de las Moléculas Insignia en las Dinámicas de la TJ**

Se ha demostrado que la TJ ha surgido como una plataforma para la transducción de señales para coordinar las diferentes funciones celulares, en particular las dinámicas de la funcionalidad de la TJ para permitir el paso oportuno de las células, tales como los espermatozoides preleptoteno y leptoteno y monocitos a través de la BTB y el epitelio, respectivamente. Por ejemplo, pequeñas GTPasas, *Cdc42* y *Rac*, se conocen por estar involucradas en las dinámicas del citoesqueleto de actina y la polaridad celular, ligadas a un complejo proteínico Par6, Par3/ASIP y PKC que se establecen en las TJs. Cuando cualquiera de la Par6, Par3 o *Cdc42* es sobreexpresada en células epiteliales, ocasionan dislocación de la ZO-1 del sitio de la TJ, dando pérdida de la polaridad celular, indicando que el complejo *Cdc42/Par6/Par3/PKC*, junto con la ZO-1 pudieran ser críticos para mantener el contacto célula-célula y la polaridad celular hacia el sitio de las TJs. Además las pequeñas GTPasas, tales como la Rho, *Rac* y *Cdc24*, son moléculas importantes que regulan las dinámicas de TJ por la vía de sus efectos sobre la F-actina. Por ejemplo, la sobreexpresión de la *RhoV14* y la *RacV12* causan destrucción de los cabos de la TJ debido a una redistribución caótica de la ZO-1 y de la occludina. Otros estudios demuestran que tanto las células germinales como las células de soporte expresan pequeñas GTPasas, tales como las *Cdc42*, N-Ras, *Rac2* y *RhoB*, indicando que ambas están para tener parte en la reorganización de las células de Sertoli y germinales, de su sistema citoesqueleto, para facilitar el movimiento de la célula germinal (Cheng, 2002) (Fig.11).

b) *Uniones de Anclaje o de Adherencia (AJ-Adhering o Anchoring Junction).*

Las uniones de anclaje (o adherentes) son abundantes en muchos tejidos, en particular están sujetos a mecanismos de stress. Las uniones de anclaje se conectan físicamente a los elementos del citoesqueleto de una célula para otra vecina o para la matriz extracelular (ECM). En conjunto hay cuatro tipos de uniones de anclaje: 1) zonas de adhesión o uniones adherentes (Ajs), 2) contactos focales, 3) desmosomas y 4) hemidesmosomas. Las uniones de anclaje que conectan dos células simultáneamente son conocidas como zonas o cinturones de adhesión y desmosomas; aquellas que conectan a las células a la matriz extracelular son los contactos focales y hemidesmosomas. Las AJs y los contactos focales utilizan filamentos de actina como sitios de fijación, en cambio los desmosomas y hemidesmosomas usan filamentos intermedios como sitios de fijación. Las AJs están localizadas en los dominios apicales de las células por debajo de las TJs y están constituidas ampliamente por células dependientes de  $Ca^{2+}$  con moléculas de adhesión (CAMs) también conocidas como cadherinas. Las cadherinas a su vez se fijan a las proteínas de fijación intracelular, tales como la  $\beta$ - y la  $\gamma$ -catenina. Este complejo cadherina/catenina se asocia con el paquete de filamentos de actina subyacente, siendo ésta una vía de interacciones con la vinculina y la  $\alpha$ -actina (Cheng, 2002).

El cierre morfológico entre las células de Sertoli y las germinales tienen asociación en los diferentes estados de su desarrollo estando claramente visibles en el epitelio seminífero durante toda la espermatogénesis tanto a nivel molecular como bioquímico. El análisis morfométrico de los testículos de la rata adulta muestran que cada célula sustentacular está asociada con ~30~50 células germinales de cada fase del ciclo espermatogénico. Realmente estudios in vitro han demostrado que hay un tráfico bidireccional entre las células de Sertoli y las germinales y que cada una regula la función de la otra (Cheng, 2002).

**- Funciones de las Uniones de Anclaje.**

Estas uniones se vinculan a elementos del citoesqueleto desde una célula a otra o a la matriz extracelular, creando un sistema que mantiene la integridad del tejido. En otros tejidos, tal como en la epidermis, la unión de anclaje también actúa como una primera línea de defensa contra el ambiente externo. La dinámica natural de las uniones de adherencia en el testículo permite el paso oportuno de las células germinales desarrolladas a través del epitelio seminífero desde el compartimiento basal al adluminal durante la espermatogénesis (Cheng, 2002) (*Figura 12*).

**- Proteínas de las Uniones de Anclaje.**

**CADHERINAS.** Estas son proteínas de la membrana de 115-130 kDa pertenecientes a la familia de las CAMs dependientes de  $Ca^{2+}$ , las cuales afectan la morfología, arquitectura y función celular. Más de 30 cadherinas han sido identificadas. Dos clases diferentes de cadherinas están establecidas en las AJs y en los desmosomas (uniones de anclaje basadas en filamentos intermedios célula-célula). Estas se conocen como *cadherinas clásicas* (E-cadherina, N-cadherina, P-cadherina y L-CAM) y *cadherinas desmosomales* (desmogleinas-Dsgs y desmocollinas-DsCs), las cuales participan en la

adhesión celular con las uniones de anclaje basadas en filamentos intermedios célula-célula llamadas *desmosomas* (Cheng, 2002).

**CATENINAS.** Existen cuatro tipos de cateninas, llamadas:  $\alpha$ -catenina,  $\beta$ -catenina,  $\gamma$ -catenina y p120<sup>cas</sup>. Estas se asocian con las cadherinas formando un complejo cadherina/catenina. Estos complejos son la unidad funcional de adhesión celular de la AJ (Cheng, 2002).

**NECTINAS Y AFADINAS.** En adición al complejo cadherina/catenina, las nectinas pertenecen a una nueva familia surgida de las proteínas de la membrana integral de la AJ. El dominio intracelular de cada una de las moléculas de la nectina interactúa con una molécula de afadina (AF6), para formar el complejo afadina/nectina. La afadina interactúa con la ZO-1,  $\alpha$ -catenina y la ponsina (la ponsina es una proteína ligadora de la afadina) en el citoplasma en el sitio de las AJs. Un estudio demuestra que en un corto tramo de la secuencia de la  $\alpha$ -catenina, en los residuos 385-651, contiene el sitio de ligadura de la afadina. El complejo afadina/nectina está altamente concentrado en las AJs y se establece en el mismo sitio del complejo cadherina/catenina. El mecanismo preciso por el cual este complejo tiene efectos de adhesividad celular no se conoce aún. Tampoco se conoce, si el testículo usa esta unidad funcional con el complejo cadherina/catenina para regular las dinámicas de la AJ. Se ha reportado que la nectina-2 está presente exclusivamente en las células de Sertoli y la nectina-3 en las espermátidas elongadas permitiendo las interacciones nectina/afadina en el sitio de la ES apical. Con esto se sugiere que el complejo nectina/afadina es uno de los tres constituyentes de los complejos proteicos de la ES, además del  $\alpha_6\beta_1$ -integrina/laminina, y el complejo cadherina/catenina (Cheng, 2002).

**TESTINA.** La testina es una proteína asociada a la AJ, fué originalmente identificada en medios de cultivo enriquecidos con células de Sertoli. Es un producto secretorio de las células de Sertoli y sensible a la testosterona. Las células de Sertoli son la principal fuente de testina en el epitelio seminífero y las células germinales aisladas de los testículos de la rata adulta no expresan ni secretan testina. Se establece en los sitios de las AJs de la célula germinal-Sertoli, tales como, las especializaciones ectoplásmicas y complejos tubulobulbares. Estudios *in vitro* ilustran que la destrucción de las AJs entre las células de Sertoli y las germinales inducen una oleada en la expresión de la testina, pero cuando la funcionalidad de la AJ es reedificada, sus niveles bajan, sugiriendo que ésta puede ser una molécula insignia asociada a la AJ (Cheng, 2002).

#### - Moléculas Asociadas a las AJs.

Estas incluyen a la Src, Csk, CK2, GSK y p120<sup>cas</sup>. La fosforilación proteica de estas moléculas regula el complejo cadherina/catenina al alterar la adhesividad celular. Están asociadas a la espermiación (Cheng, 2002).



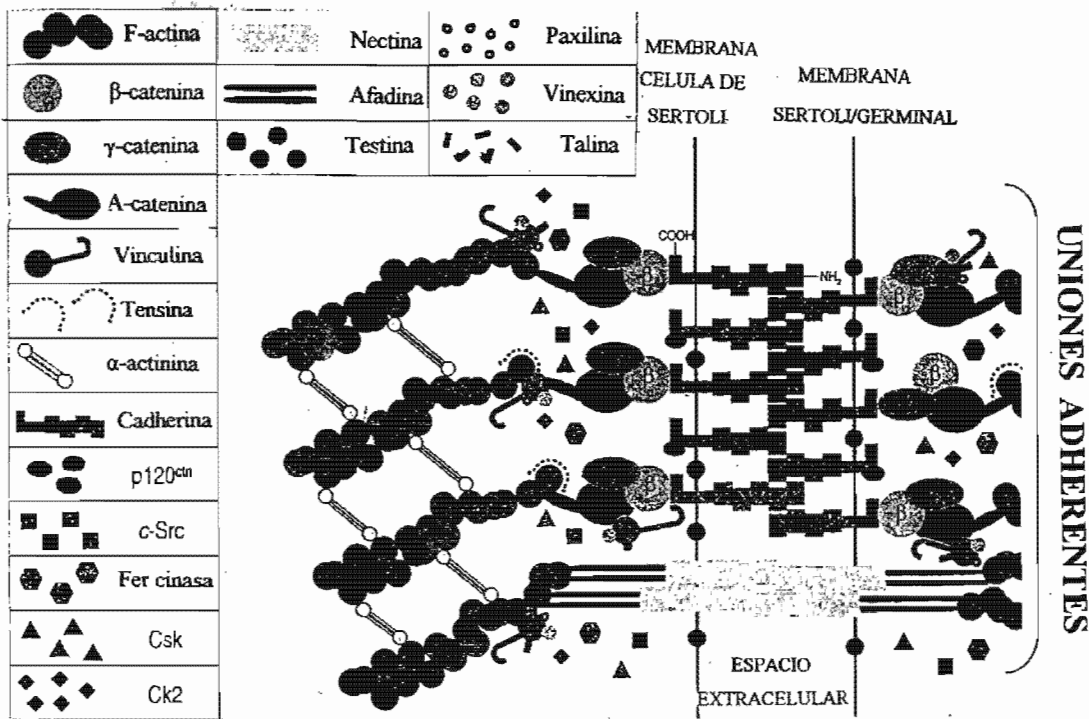


Fig. 12. Dibujo esquemático que describe los componentes proteinicos hacia los sitios de las uniones adherentes (AJ) célula-célula basadas en la actina entre las células de Sertoli y germinales y las moléculas insignia asociadas en las AJs (Cheng, 2002)

#### - Otras.

Estudios por inmunohistoquímica han demostrado la presencia de fimbrina y espina en las AJs célula-célula al usar filamentos de actina como sitios de enlace en el testículo. La placoglobina también se detectó en los desmosomas. Sin embargo, no se ha probado su función fisiológica en la regulación de las dinámicas de la AJ testicular (Cheng, 2002).

#### - El Hemidesmosoma

La fijación del epitelio sustentacular a la lámina basal por la vía de estructuras como el hemidesmosoma sirven para anclar a la célula hacia el tejido conectivo subyacente (De Kretser, 1994; Griswold, 1999) (Figura 13).



Fig. 13. Hemidesmosoma. Esta caracterizado por placas densas de membrana plasmática a lo largo de la célula de Sertoli basal en su relación con la lámina basal. Los filamentos intermediarios son comúnmente vistos infringiendo sobre estas uniones (Griswold, 1999).

#### - Uniones con Abertura Mínima (GAP)- Desmosoma.

Los epitelocitos forman uniones con las células germinales, las cuales tienen la característica de ambas uniones gap y desmosomas. La adherencia de los desmosomas aparece para la función de enlace célula a célula y el movimiento de células (De Kretser, 1994; Griswold, 1999). Las uniones con apertura mínima (*gap*) son canales acuosos directos capaces de transferir moléculas de cerca de 1000  $M_r$  (proporción de masa promedio del isótopo natural de un elemento a una veintea parte de la masa del nucleótido  $C_{12}$ ), se han demostrado entre las células germinales y de sostén para facilitar su comunicación. Ellas podrían formar las bases por continuidad eléctrica por medio de cambio de iones y por cambio metabólico por transferencia a la célula germinal de nucleótidos cíclicos y de otros posibles substratos metabólicos (De Reviers, 1990) (**Figura 14**).

#### - Complejos Tubulobulbares.

Las células de Sertoli forman un tipo inusual de relación con otra a nivel de su barrera, es llamado complejo tubulobulbar porque posee un componente tubular y un bulbo. Ellas también forman complejos tubulobulbares con las espermátidas (De Kretser, 1994; Griswold, 1999). Los complejos tubulobulbares han sido demostrados en la rata, verraco, mono, perro, hámster, cuyo, ratón, conejo y zarigüeya. Estos están compuestos de túbulos (1-2  $\mu m$  de largo para la mayoría de las especies) originándose desde el citoplasma de las cabezas de la espermátida justo antes de la espermiación y finalizando en un bulbo profundamente enclavado en el citoplasma de la célula de Sertoli. El bulbo está rodeado por el retículo endoplásmico de la célula de soporte. Ha sido asumido por algún tiempo que el

papel del complejo tubulobulbar es para absorber el exceso de citoplasma o agua desde las espermatidas antes de la espermiación (De Reviers, 1990). Varias generaciones de complejos tubulobulbares se forman y son fagocitados por las mismas células. Este complejo proporciona un medio para anclar a la espermatida conforme se extiende hacia el lumen antes de la liberación del espermia (Griswold, 1999) (**Figura 15**).

Fig 14.



Fig. 15.

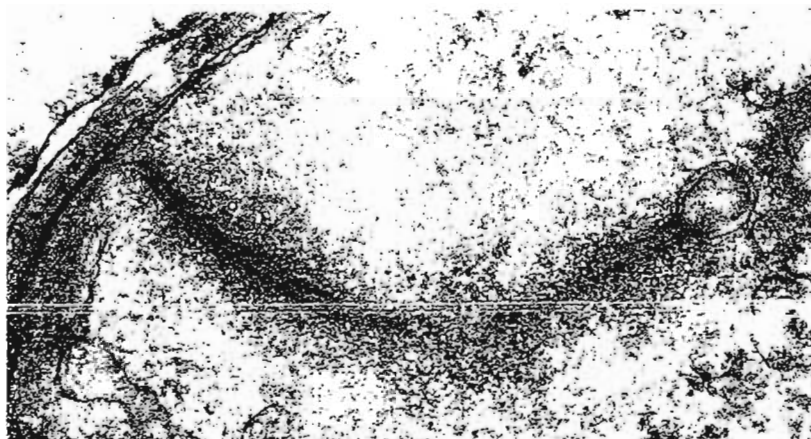


Fig. 14. Desmosoma – uniones gap. Esta unión gap-desmosoma es una frecuente relación entre las células de Sertoli y las células germinales. Se caracteriza por un espacio uniforme entre las células excepto en donde las membranas convergen hacia la unión gap mínima (Opuesto a la cabeza de flecha). Los filamentos intermedios (cabeza de flecha) son vistos en asociación íntima con la subsuperficie sobre la Sertoli del lado del complejo. (Griswold, 1999).

Fig. 15. Complejo Tubulobulbar Sertoli-Sertoli. Son evaginaciones de una célula de Sertoli hacia otra dando la forma de tubos con bulbos finalizando el desarrollo de la uniones Sertoli-Sertoli y las especializaciones ectoplásmicas asociadas. Los filamentos de actina rodean a la porción tubular del complejo (Griswold, 1999).

### - Especializaciones Ectoplásmicas (ES).

Las células epiteliosustentaculares forman un complejo único con las espermátidas elongadas llamado especialización ectoplásmica (Griswold, 1999). Es el mejor tipo de unión de anclaje célula-célula al usar un sitio de vínculo de filamento de actina en el testículo entre las células de Sertoli y las germinales (Cheng, 2002). Cuando el núcleo que se encuentra cubierto por el acrosoma se desplaza hacia la superficie celular de las espermátidas en medio de la espermatogénesis, se observan *especializaciones ectoplásmicas* (ES) también conocidas como el manto de la célula de Sertoli, en su citoplasma que rodea la membrana plasmática que cubre al acrosoma. Es posible que las ES intervengan en la adhesión de las espermátidas a las células de Sertoli, lo cual permite la orientación adecuada de cabeza y cola de las espermátidas y que ésta orientación permanezca con respecto a las cabezas de las espermátidas hasta la espermiación (De Reviers, 1990; Griswold, 1994; Hafez, 2002). Las ES consisten de una banda densa de filamentos ricos en actina insertadas entre la membrana plasmática de la célula de Sertoli y en la cisterna del retículo endoplásmico. Estudios por Palombi y colegas proporcionaron evidencia inmunocitoquímica de que las integrinas  $\beta_1$  pudieran estar involucradas en la formación de éstas especializaciones ectoplásmicas (De Kretser, 1994) (*Figura 16*).

En el testículo hay dos tipos de ES designadas, la ES apical y la basal. Las ESs apicales se establecen entre las células de Sertoli y las cabezas adyacentes de las espermátidas desarrolladas; las ESs basales están presentes entre los mismos epitelocitos pero también entre ellos y los espermatoцитos, hacia la base del epitelio seminífero. Esto permite el paso de los espermatoцитos a través del epitelio por la vía cíclica del desarme y ensamble de éstas uniones. Las moléculas que han sido identificadas en las ESs son: la *actina*,  *$\alpha$ -actina*, *fimbrina*, *espina* (una proteína ligadora de actina), *vinculina*,  *$\beta_1$ -integrina*, *paxillina*, *gelsolina*, *miosina VIIa* y la *ILK*. Se postuló que ésta última (una proteína-quinasa serina-treonina), es una importante molécula insignia que regula las dinámicas de la ES. También se propuso que las CAMs primarias  $\alpha_6 \beta_1$ -integrina (ES apical) y la  $\alpha_6 \beta_4$ -integrina (ES basal) se establecen en la ES en el testículo, mientras los complejos cadherina/catenina son probablemente usados para la adhesión celular entre los epitelocitos sustentaculares. Debe hacerse notar que la pareja convencional de la integrina en la unión de anclaje es la laminina, la cual está usualmente restringida a la ECM (Cheng, 2002).

### - Procesos Penetrantes.

Los procesos apicales de las células de Sertoli indentan extensivamente el citoplasma de las espermátidas alargadas y en alargamiento para formar los llamados procesos penetrantes. Su función es desconocida pero, al menos ellas, substancialmente incrementan el área de superficie de contacto del epitelocito con la espermátida para facilitar el cambio metabólico. Algunos procesos pueden ser fagocitados por las espermátidas y otros simplemente desaparecen (Griswold, 1999) (*Figura 17*).

Fig. 16

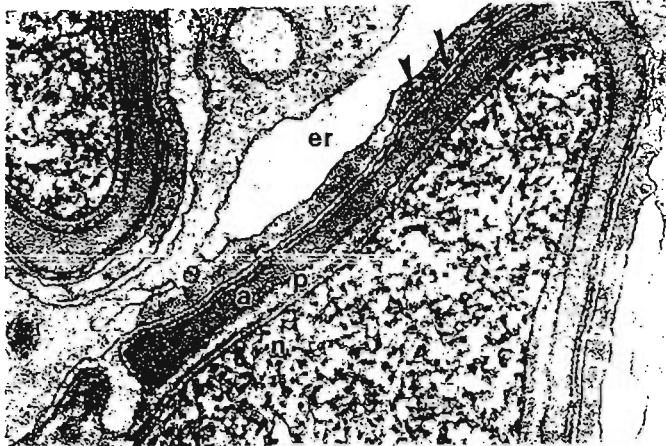


Fig. 17



Fig. 16. Especialización Ectoplásmica. Estas espermátidas elongadas, con su núcleo (n), acrosoma (a) y membrana plasmática (p), muestra una superficie de especialización de la célula de Sertoli llamada especialización ectoplásmica. Los componentes son grandes sáculos de retículo endoplásmico (er) y los filamentos de actina que descansan próximos a la membrana plasmática de la célula de Sertoli (Griswold, 1999).

Fig. 17. Procesos penetrantes (p). Varios procesos penetrantes son vistos indertando el citoplasma de las espermátidas elongadas a lo largo de la región del flagelo (F) (Griswold, 1999).

### - Regulación de las Dinámicas de la AJ

Los eventos dinámicos de la AJ y su regulación en el testículo son uno de los principales fenómenos intrigantes en la espermatogénesis, en el presente, está aceptado que las dinámicas de la AJ están reguladas por distintos caminos posibles y/o mecanismos (Cheng, 2002).

*Complejo cadherina/catenina: la unidad funcional de las AJ.* Estudios han demostrado que la unidad funcional de la AJ está regulada grandemente por las moléculas insignia asociadas a la AJ, tales como la Src, Csk, CK2 y la p120<sup>cas</sup>. Por ejemplo, se ha demostrado que el no acoplamiento selectivo de la p120<sup>cas</sup> a la E-cadherina puede inducir la disminución de la adhesividad celular cadherina-dependiente. Se ve cada vez más claro que las proteínas de la AJ, son responsables del vínculo de las células germinales sobre el epitelio, después que los anticuerpos contra las cadherinas pueden perturbar el vínculo de las células germinales con las células de Sertoli, lo cual es un prerequisite de ensamble de la AJ subsecuente (Cheng, 2002).

*Fosforilación proteínica.* La fosforilación de las proteínas asociadas a la AJ juega un papel crucial en la regulación de las dinámicas de la AJ. Por ejemplo, la fosforilación de la tirosina del complejo cadherina/catenina esta implicado en la regulación de las dinámicas de la AJ, puesto que afecta su asociación. Realmente se piensa que la adhesión célula-célula es dependiente del estado de fosforilación del complejo cadherina/catenina, el cual está regulado por un número de moléculas insignia intracelulares de la AJ y/o moléculas del citoesqueleto, tales como la CK2 (proteínasa Ser/Tre), la C5K (proteína tirosinasa y reguladora de la Src), la Src (proteína putativa tirosinasa), la FAK (cinasa de adhesión focal que regula los procesos de adhesión celular), la p130<sup>cas</sup> (substrato por fosforilación de la Src) y la paxillina (Cheng, 2002).

*Proteínas ligadoras de GTP.* La funcionalidad de la AJ esta regulada, al menos en parte, por pequeñas GTPasas o proteínas ligadoras de GTP por sus acciones sobre: 1) el sistema de filamentos de actina, 2) organización de la actina periunión en epitelios polarizados y 3) caminos señalados pertinentes a los eventos de la adhesión celular y ensamble de unión. Las GTPasas son proteínas monoméricas con masas moleculares entre 20 y 40 kDa. Constan de al menos cinco familias: *Ras*, *Rho/Rac/Cdc42*, *Rab*, *Sar1/Arf* y *Ran*. Estas pequeñas GTPasas regulan una variedad de funciones celulares y biológicas, principalmente el tráfico de la membrana y vesículas, movimiento celular, regulación transcripcional, apoptosis y reorganización del citoesqueleto de actina y adhesión focal pertinentes a las dinámicas de AJ y TJ. Algunos estudios demuestran que ambas células de Sertoli y germinales, expresan RhoA, RhoB, Cdc42, N-Ras, H-Ras, Rab8B y Rab13 y los eventos están regulados, al menos en parte, por las GTPasas RhoB. Las GTPasas no sólo actúan como interruptores moleculares para regular el sistema citoesquelético al inducir polimerización de los filamentos de actina, sino que, aquellas también, pueden afectar la recirculación de las cadherinas por la vía de sus efectos sobre la endocitosis como un medio para regular las dinámicas de la AJ (Cheng, 2002).

*Otros.* Se demostró en un estudio in vitro la presencia de proteasas, como la cathepsina L, triptasa y el activador de plasminógeno; inhibidores de proteasa, como la  $\alpha_2$ -macroglobulina; peróxido dismutasa; sertolina; PTP, como la miotubularina; y moléculas asociadas, como las cadherinas y cateninas. Esto sugiere que las dinámicas de la AJ están reguladas por una variedad de moléculas más que las que están físicamente localizadas en el sitio de las uniones. Otro estudio, demuestra que las citocinas también juegan un papel en la regulación de las dinámicas de la AJ induciendo fosforilación. Los factores de crecimiento como el EGF también pueden estimular la fosforilación de la tirosina de la  $\beta$ -catenina y de la p120<sup>cas</sup> (Cheng, 2002).

## 8. Regulación Humoral

### *a) Secreción de líquidos.*

Las espermátidas producidas durante la fase final de la espermiogénesis se liberan durante la espermiación en la luz de los túbulos seminíferos en la forma de espermatozoides inmaduros. Estas células espermáticas, inmóviles, son barridas de los túbulos por secreciones líquidas que se originan desde las células de Sertoli. El tránsito hacia el interior del epidídimo es auxiliado por secreciones procedentes de la red testicular, por los elementos contráctiles de los testículos (células mioideas y cápsula testicular) y por los cilios que revisten los conductos eferentes (Hafez, 2002).

El líquido celular es una secreción que se compone de las células de Sertoli y de células epiteliales que revisten la red testicular. Sin embargo, se piensa que las primeras son la fuente principal del líquido que sale de los testículos (Hafez, 2002; Pace, 2000). La secreción de tales células se debe probablemente a que los procesos de transporte activo empujan solutos hacia el compartimiento adluminal, creando de éste modo un gradiente osmótico. Este líquido contiene varias proteínas peculiares como la ABP, que es secretada en la luz del túbulo seminífero por las células de Sertoli. La ABP forma un complejo con los andrógenos producidos por los endocrinocitos (Leydig). Dicho complejo tal vez ayude al tránsito de los andrógenos hacia la cabeza del epidídimo (Hafez, 2002).

La concentración de éste fluido varía entre las especies, desde  $16-60 \times 10^6/\text{ml}$  (rata, conejo) hasta  $100-300 \times 10^6/\text{ml}$  (verraco, toro, mono) y con carneros de raza Romanov en la estación de cruce de aproximadamente  $80 \times 10^6/\text{ml}$  de enero a mayo y de  $130 \times 10^6/\text{ml}$ , de julio a noviembre. El fluido tubular seminífero (STF), tiene altas concentraciones de potasio y bajas concentraciones de sodio comparadas con aquellas en el plasma sanguíneo y linfa (De Reviere, 1990), con 10 veces más  $\text{K}^+$  y menos concentraciones de sodio (Pace, 2000). Se cree que hay una traslocación  $\text{Na}^+-\text{K}^+$  y ATPasa sobre la membrana basal de la célula de Sertoli, la cual está involucrada en la secreción tubular de potasio y que ésta es esencial para la secreción del fluido a través del epitelio (De Reviere, 1990). La producción de un fluido con una composición iónica única por el epitelio de los testículos ha conducido a la hipótesis de que éste juega un papel crucial en el desarrollo normal de las células germinales o la función de las células de soporte (Pace, 2000) (*Figura 18*).

La evidencia de especies estacionales, también sugiere que hay una clara relación entre la producción de STF y la iniciación y expansión de la espermatogénesis durante la estación de empadre. La producción de STF parece ser el primer factor para el cambio en muchas situaciones, y porque esto representa la mayor ruta por la cual todos los nutrientes son liberados hacia las células germinales desarrolladas (De Kretser, 1994). En el fluido tubular hay mucha menos proteína y virtualmente no hay glucosa, probablemente porque la glucosa que entra a los túbulos es convertida por las células sustentaculares en lactato o piruvato para utilización por las células germinales (Johnson, 1991).

Existen categorías de glucoproteínas secretadas por los epitelocitos. Las bioprotectivas o de transporte que son secretadas en relativa abundancia e incluyen proteínas transportadoras, iones metálicos como las transferrina y ceruloplasmina. La segunda

categoría de proteínas secretadas incluyen, proteasas e inhibidores de proteasas, las cuales son importantes en procesos remodeladores de tejido, las cuales ocurren durante la espermiación y movimiento de los espermatoцитos preleptoteno hacia el compartimiento adluminal. La tercer categoría de las secreciones incluyen, a las glucoproteínas, las cuales forman la membrana intermedia entre la célula de Sertoli y las células peritubulares. Finalmente secretan una clase de glucoproteínas que pueden ser producidas en poca abundancia y no obstante conducen sus papeles bioquímicos. Estas glicoproteínas funcionan como factores de crecimiento o factores paracrinicos e incluyen productos como la AMH y la inhibina. En adición, pueden secretar péptidos activos como la *prodinorfina* y nutrientes o intermediarios metabólicos (Griswold, 1999) (*Figura 19*).

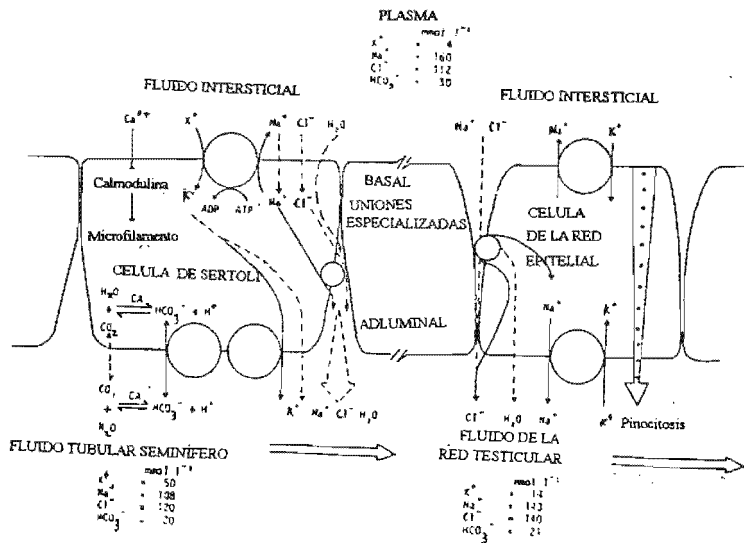


Fig 18. Modelo de la elaboración del fluido del túbulo seminífero y fluido de la red testicular por las células de Sertoli y células de la red epitelial de la rata (Waites, 1990).



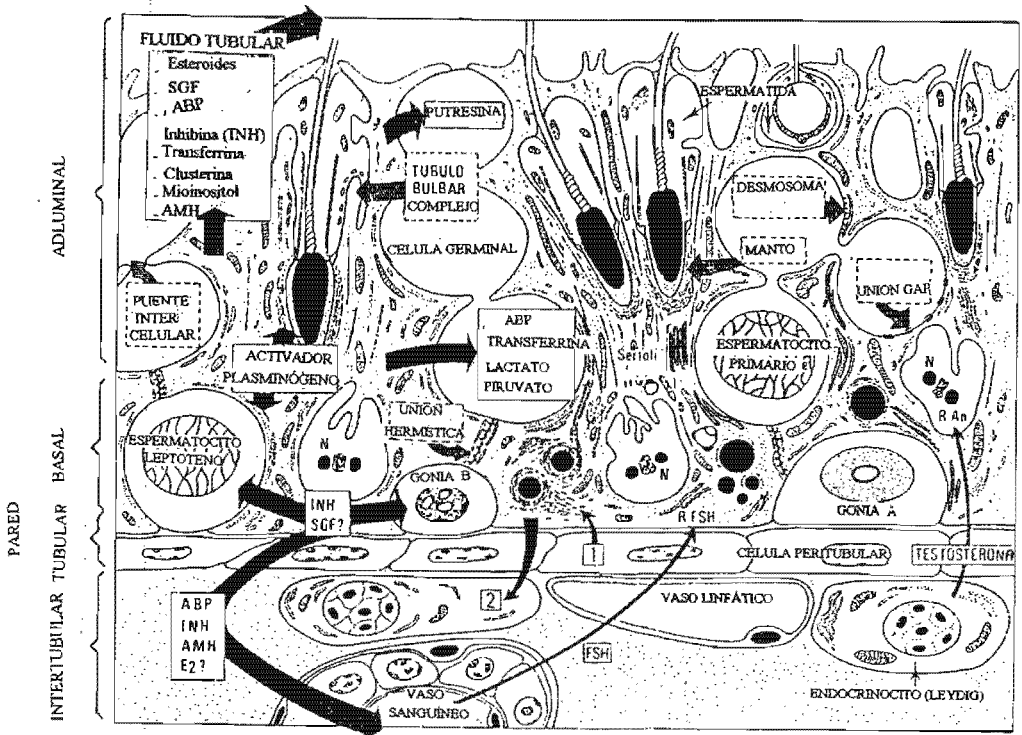


Fig. 19. Estructura testicular. El epitelio es separado desde el tejido intertubular por la pared tubular. el epitelio seminífero esta compuesto de células de Sertoli y células germinales. Esta dividido en dos compartimientos- el basal y el adluminal- por la barrera hematotesticular, formada por las uniones herméticas entre las células de Sertoli. Los diferentes tipos de uniones existen entre las células de Sertoli y las germinales y los puentes intercelulares existen entre las células germinales de la misma generación. Los factores que controlan las funciones de la célula de Sertoli y sus funciones están resumidas. N, núcleo de la célula de Sertoli; A gonía, espermatogonia tipo A; B gonía, espermatogonia tipo B, R FSH, sitios de ligadura de FSH en la membrana citoplasmática de la célula de Sertoli; R An, sitios de ligadura de andrógeno en el núcleo de la célula de Sertoli, no excluye la presencia de sitios de ligadura de andrógeno en otros tipos de células testiculares; *Flechas gruesas negras*, secreciones de las células de Sertoli; *flechas delgadas negras*, función de las células de Sertoli controladas por hormonas; *flechas sombreadas*, uniones entre las células de Sertoli y/o células germinales; ABP, proteína ligadora de andrógeno; AMH, hormona anti-Mülleriana; INH, inhibina; SGF, factor(s) de crecimiento testicular; E2, estradiol-17 $\beta$ . FSH, hormona folículoestimulante; 1, factor(s) producidos por células peritubulares y controladoras de las secreciones de las células de Sertoli; 2, Factor(s) producidos por las células de Sertoli y controladoras de las secreciones de las células de Leydig (De Reivers, 1990).

*b) Hormona anti-Mülleriana (AMH) o Sustancia Inhibidora Mulleriana (MIS).*

Pertenece a la superfamilia de las glucoproteínas diméricas (Rajpert, 1999; Rey, 2003) y miembro de la superfamilia del factor- $\beta$  de crecimiento transformante (TGF- $\beta$ ) (Jamin, 2003). Con un peso molecular de 140 kDa (Josso, 2001; Rey, 2003). También conocida como factor o sustancia inhibidora Mülleriana (MIS) (De Reviere, 1990; Young, 1999). Su acción primaria es la de causar regresión de los ductos de la hembra en la vida fetal (De Reviere, 1990; Johnson, 1991; Parr, 1998; Rajpert, 1999; Young, 1999). Es secretada por las células pre-Sertoli de la gónada embrionaria XY (Ross, 2003).

Hay evidencia de una regulación positiva por la FSH de la secreción de la AMH post-natal por las células de Sertoli (Young, 2003). Durante el desarrollo puberal, la expresión de la AMH se desvanece en coincidencia con el comienzo de la meiosis de la célula germinal. El declive en la producción de la AMH es un marcador de la elevación de la concentración de andrógeno intratesticular (Rey, 2003; Young, 2003; Thompson, 2003). Con en el desarrollo de la barrera hemato-testicular y al establecimiento de las uniones herméticas entre las células sustentaculares, la secreción bidireccional de la AMH parece desviarse desde el compartimiento basal al adluminal, lo cual da por resultado concentraciones más altas de la AMH en el plasma seminal que en la sangre (Rey, 2003). La apoptosis ha sido propuesta para jugar un papel en la regresión del conducto de Müller. La destrucción de la membrana periductal, el cambio de orientación de algunas células epiteliales y su entrada en el compartimento mesenquimal son también importantes eventos de regresión del conducto de Müller (Xavier, 2003).

El receptor de la sustancia inhibidora Mülleriana está expresada por las células mesenquimatosas subyacentes al ducto de Müller. Los machos también expresan el receptor, en las células de Sertoli del testículo (Parr, 1998). Los miembros de la familia TGF- $\beta$  dan señales por medio de dos distintos receptores serina/reonina con un solo dominio transmembrana, el llamado receptor tipo II o receptor primario (AMHR-II) y el receptor I (Josso, 2001; Visser, 2003), y dos efectores citoplásmicos, Smads regulado por receptor (R-Smad) y Smad común (Smad4). El camino Smad activado por la AMH fue el primero identificado en dos líneas celulares de origen testicular, SMAT-1 de origen epiteliosustentacular y MA-10 de origen de los endocrinocitos (Clemente, 2003). Durante la embriogénesis, el receptor II está expresado en las células mesenquimales que rodean al ducto Mülleriano y células de la granulosa de las gónadas del embrión y del adulto y en las células somáticas de las gónadas XX y XY (Hoshiya, 2003; Ross, 2003; Visser, 2003). La migración mesoneférica inducida por la AMH no es un efecto de bajo-corriente de diferenciación de la célula de Sertoli o de la célula de Leydig en la gónada XX. Estudios bioquímicos tienen identificado a dos receptores tipo I Bmp, el ActRIA (también llamado Alk2) y el Bmpr 1 b (también llamado Alk6) como candidatos de receptores tipo I para la AMH (Ross, 2003). Resultados indican que el Bmpr 1 es un componente esencial del camino insignia de la AMH en el ducto Mülleriano y que otras Alk's pueden no ser requeridas para la regresión del ducto Mülleriano. Esta nueva función del receptor BMP 1A también implica que puede interactuar físicamente con el receptor tipo II de la AMH para transducir señales de la AMH (Jamin, 2003). La identificación de ALK2, ALK3 y ALK6 como receptores tipo I de AMH arrojan evidencia sobre el mecanismo molecular de la regresión del ducto Mülleriano inducido por la AMH (Visser, 2003).

La regresión de los ductos Müllerianos ocurre en los fetos del macho hacia un primer estado de desarrollo bajo la influencia de una secreción testicular la cual no es esteroidea ni proteínica y es sintetizada por precursores fetales de las células de Sertoli. La síntesis de la AMH en la rata se suspende por la tercer semana de edad, después de la diferenciación de las células de Sertoli. Alguna actividad es aún observada en el testículo del adulto, pero la AMH es principalmente una fetoproteína que declina conforme las células de Sertoli se diferencian. Esta estructura revela homología con el factor  $\beta$  de crecimiento transformante (De Reviers, 1990; Rajpert, 1999; Josso, 2001).

Tres factores regulan la expresión de AMH por las células de Sertoli (Josso, 2001), la disminución de la secreción de la AMH se sugiere que está mediada directamente por los andrógenos por la vía del receptor de andrógeno de la célula (Young, 1999; Rajpert, 1999). Las gonadotropinas tienen un efecto estimulador en la expresión de AMH por los endocrinocitos, lo cual es visible solamente en la ausencia de andrógenos. La maduración de las células germinales también tienen un efecto en la expresión de la AMH por las células de Sertoli en el mismo túbulo seminífero (Josso, 2001). La localización de la AMH en la cisterna del retículo endoplásmico rugoso en el becerro fetal y neonatal sugiere el involucramiento de éste organelo en la secreción de la proteína ligadora de andrógeno e inhibina y en mantener las funciones de la célula de Sertoli (Singh, 1989). La AMH puede también activar otro camino insignia como el de la  $\beta$ -catenina (Clemente, 2003). Otra función de la AMH es la de regulación de la proliferación de las células de Leydig en el testículo del adulto (Ross, 2003).

#### c) *Proteína Ligadora de Andrógeno (ABP) y la TeBG.*

Muchas de las proteínas específicas del fluido surgen como proteínas secretorias desde las células de soporte. Por ejemplo, la *proteína ligadora de andrógeno (ABP)*, es inducida por la FSH, la ABP fija la testosterona y mantiene las concentraciones intratubulares necesarias para la espermatogénesis (De Reviers, 1990; Johnson, 1991; Bardin, 1994; Dellmann, 1999). La ABP de rata es producida por éstas células y es conocida para ligar, transportar y concentrar esteroides sexuales así como para proteger aquellas del catabolismo en los fluidos testiculares (María, 2002). La FSH y la testosterona incrementan la ABP pero no la secreción de la transferrina hacia el compartimiento interno (Sanfilippo, 1989). La proteína ligadora de andrógeno debe aparecer para transportar andrógenos hacia el lumen de la cabeza del epidídimo para mantener su integridad funcional y estructural. Coincidentemente con la formación de la barrera hemato-testicular, los niveles sanguíneos del ABP prontamente declinan (De Reviers, 1990).

La ABP de la rata es una glucoproteína de  $M_r$  85 000 compuesta de dos monómeros, estos están designados como pesado (H) y ligero (L), y con un peso molecular aparente de  $rABP_H$  de 45 000 y  $rABP_L$  de 41 000, en una proporción de 3:1. Estos protómeros difieren en la composición de carbohidratos, pero tienen una cadena similar de polipéptidos con sitios de enlace idénticos. La proteína ligadora de andrógeno secretada por las células de Sertoli podría ser transferida a las células germinales y específicamente a los espermatoцитos primarios paquitenos sobre los cuales los sitios de enlace específicos deben de ser observados (Bardin, 1994; De Kretser, 1994; De Reviers, 1990). Hay clara evidencia de

que la ABP derivada de las células de soporte, actúa sobre las espermátidas para modificar la proteína de transición-1 (TP1) a nivel del RNAm (María, 2002).

Esta proteína no se detecta en el suero de las ratas adultas, sin embargo, una gran cantidad de rABP es secretada por éstas hacia la sangre de las ratas macho hacia la pubertad y ésta ha sido confundida con la TeBG. Una de las diferencias entre éstas dos proteínas es que la ABPr está presente solamente en los machos y es claramente de origen testicular. Estudios indican que la misma proteína liga andrógenos como también estrógenos y de éste modo fué designada como TeBG, globulina ligadora de esteroides sexuales (SBG) o globulina ligadora de hormonas sexuales (SHBG) por diferentes grupos de investigadores (Bardin, 1994).

Los papeles fisiológicos postulados para la ABP incluyen: a) acarreo de la testosterona dentro de la célula de Sertoli; b) acarreo para mantener altas concentraciones de andrógenos en los túbulos seminíferos y epidídimo; y c) transportador de testosterona desde el testículo hacia el epidídimo. Es claro que las células de Sertoli de muchas especies producen ABP, presumiblemente para servir la misma función en el tracto reproductivo, como la TeBG sirve, en la circulación sistémica (Bardin, 1994).

#### *d) Esteroides.*

La presencia de abundante retículo endoplásmico liso simultáneamente con crestas tubulares dentro de la mitocondria, sugieren que las células de Sertoli están comprometidas en el metabolismo de esteroides. Esto es además hecho posible por la presencia de la  $5\alpha,3\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa. Se mencionaba que las células de Sertoli no sintetizaban esteroides por usar acetato o colesterol como precursores. Sin embargo, Wiebe, detectó bajos niveles de producción esteroidea en células de Sertoli aisladas, éstas metabolizan la progesterona hacia testosterona en ratas adultas y aromatizan andrógenos hacia  $17\beta$ -estradiol en ratas prepubescentes (De Reviere, 1990; Bardin, 1994).

#### *e) Inhibinas, Activinas y Folistatina*

Aunque muchas de las proteínas y péptidos producidos por las células de Sertoli tienen efectos paracrinos y autocrinos sobre el testículo, unos pocos de esos productos son secretados hacia la sangre y actúan como mediadores sobre otros tejidos (Bardin, 1994). Las inhibinas y activinas se aislaron de líquidos gonadales debido a sus efectos en la producción de FSH (Tada, 2001; Hafez, 2002). Las inhibinas y activinas son reguladores paracrinos, ya que modulan la señal endocrina de la LH (Hafez, 2002). En el tejido testicular, la inhibina- $\alpha$  y la activina- $\beta A$  y la  $\beta B$  fueron expresadas solamente en el intersticio testicular entre los lóbulos seminales (Tada, 2001)

Las inhibinas, activinas y folistatina fueron aisladas sobre las bases de su capacidad para modificar la secreción de FSH por la pituitaria. La modulación de la FSH por la activina y la folistatina dan por resultado acciones paracrinas y autocrinas hacia la pituitaria. Desde que la FSH ejerce numerosos efectos sobre el testículo, la modulación de su secreción por la inhibina, activina y folistatina pueden influenciar la función testicular (De Kretser, 2001; Anderson, 2001).

*Inhibinas.* Cuando los túbulos seminíferos fracasan en la producción de espermatozoides, la secreción de FSH por la adenohipófisis aumenta notablemente. A la inversa, cuando la espermatogénesis es demasiado rápida, la secreción de FSH disminuye. Se cree que la causa de este efecto de retroacción negativa sobre la adenohipófisis es la secreción, de una hormona denominada inhibina (De Reviere, 1990; Guyton, 2001). Esta hormona ejerce un poderoso efecto directo sobre la adenohipófisis inhibiendo la secreción de FSH (Johnson, 1991; De Kretser, 1994; Bardin, 1994; Dellmann, 1999; Carisen, 1999; Kubini, 1999; Foresta, 2001; Guyton, 2001), y notablemente un ligero efecto sobre el hipotálamo, inhibiendo la secreción de GnRH y declina con la maduración gonadal (Dellmann, 1999; Griswold, 1999; Guyton, 2001; Ramaswamy, 2001). Son producidas por las células de Sertoli en el macho (De Reviere, 1990; Carisen, 1999; Kubini, 2001; Guyton, 2001; Ramaswamy, 2001) y por las células de la granulosa en la hembra. Estas no son esteroides, sino proteínas que constan de dos subunidades llamadas  $\alpha$  y  $\beta$  unidas por puentes de disulfuro (Bardin, 1994; Carisen, 1999; Hafez, 2002). Estas subunidades se han localizado también en las células de Leydig. La subunidad inhibina- $\alpha$  también se ha localizado en espermatozoides y la inhibina subunidad  $\beta$ B también en espermatozoides paquitenos y en células germinales maduras (Ramaswamy, 2001). Las células de Leydig también pueden ser un sitio de acción de la inhibina y la activina, por ejemplo, en la regulación de la esteroidogénesis y pueden contribuir a la regulación de la producción de inhibina por las células de Sertoli (Anderson, 2001).

Es una glucoproteína, como la LH y la FSH, con un peso molecular de 10 000 y 30 000 (Carisen, 1999; Guyton, 2001). La inhibina es una hormona peptídica gonadal dimerica, que juega un importante papel en la regulación de retroalimentación del eje pituitario-gonadal (Kubini, 2000; Ramaswamy, 2001; Andersson, 2001).

En el macho las inhibinas son secretadas por vía linfática y no por la sangre venosa, como en la hembra. Las inhibinas desempeñan una función importante en la regulación hormonal de la foliculogénesis ovárica durante el ciclo estral. Al inhibir la liberación de FSH sin alterar la liberación de LH, las inhibinas pueden ser en parte las responsables de la liberación diferencial de LH y FSH desde la hipófisis (Hafez, 2002). La acción de la LH sobre la inhibina B testicular en primates aparece para ser inhibitoria (Ramaswamy, 2001). La inhibina es secretada bidireccionalmente por las células de Sertoli, es decir, hacia el fluido del tubo seminífero (STF) y desde la base de la célula de Sertoli hacia el fluido testicular (IF). Un intrigante hallazgo, es que la secreción de la inhibina hacia el IF declina exponencialmente durante la pubertad y crecimiento testicular en la rata (Bardin, 1994).

Inmunoensayos específicos distinguen a dos isoformas biológicamente activas, la inhibina A y la B. En el macho, la inhibina B es la principal forma circulante y es aceptada como un marcador de la función de la célula de Sertoli (principal sitio de producción) y de la espermatogénesis en adultos (Carisen, 1999; Kubini, 2000; Foresta, 2001; De Kretser, 2001).

La producción de inhibina B es ya iniciada en los testículos durante el desarrollo fetal (Andersson, 2001; Anderson, 2001). Un papel diagnóstico de la inhibina B varía con la edad del individuo, antes de la pubertad una inhibina B sérica normal refleja la presencia de las células de Sertoli, por otro lado, después de la pubertad la inhibina B sérica se

correlaciona con la presencia de las células germinales en el comienzo de la espermatogénesis y no con las células de Sertoli (Andersson, 2001).

*Activinas.* Algunos estudios indican el involucramiento de factores secretados por las células de Sertoli que actúan de forma paracrina sobre los espermatocitos primarios. Las activinas son proteínas homo- y heterodiméricas consistentes en una combinación de las subunidades  $\beta_A$  y  $\beta_B$  de la inhibina, dando origen a la activina A ( $\beta_A\beta_A$ ), activina B ( $\beta_B\beta_B$ ) y a la activina AB ( $\beta_A\beta_B$ ), cada una con la capacidad para estimular la secreción de FSH por la glándula pituitaria (Meinhardt, 2000). La activina A es un producto de las células de Sertoli (Meinhardt, 2000; De Kretser, 2001). El líquido folicular contiene una fracción que estimula en lugar de inhibir la secreción de FSH (mecanismo autócrino). Las proteínas responsables de esta actividad se caracterizaron como activinas. Las activinas son potentes dímeros liberadores de FSH (dímeros de las subunidades de inhibina beta) y están presentes en líquidos gonadales, por ejemplo, en el líquido folicular y en el líquido de la red testicular. Estas hormonas heterodinámicas están compuestas de una subunidad  $\alpha$  y una o dos subunidades  $\beta$  ( $\beta_A$  o  $\beta_B$ ). La activina es un miembro totalmente funcional de los factores de crecimiento, inhibe la secreción de la hormona del crecimiento y la adrenocorticotropina (mecanismo paracrina). (Sharpe, 1994; Hafez, 2002). Las células de Sertoli expresan RNAm por las subunidades- $\beta$  de la inhibina y por consiguiente pueden crear activina (Sharpe, 1994).

#### f) Estrógenos.

Es dudosa la procedencia exacta de los estrógenos en el hombre, pero se sabe que: (1) la concentración de estrógenos en el líquido de los túbulos seminíferos es bastante elevada y probablemente desempeñan un papel importante en la espermatogénesis. Se cree que estos estrógenos se forman en las células de Sertoli por conversión de parte de la testosterona en estradiol. (2) la mayor parte de los estrógenos se forman a partir de la testosterona y del androstenediol en otros tejidos del organismo, especialmente en el hígado, lo que probablemente supone hasta el 80 % de la producción total de estrógenos en el hombre (Guyton, 2001). Los estrógenos se sintetizan por al menos tres diferentes tipos de células: células de Sertoli, de Leydig y células germinales (Hess, 2001, Carreau, 2001). Los tumores de las células de Sertoli podrían producir gran cantidad de estrógenos y causar feminización. Estos tumores son bastante comunes en caninos (Wrobel, 1998).

Las células de Sertoli son la mayor fuente de estradiol en el macho desarrollado. El papel del estradiol no se conoce pero puede estar involucrado en el mantenimiento de la reabsorción del fluido en los ductos eferentes (Griswold, 1999). Los estrógenos regulan la reabsorción del fluido en el tracto reproductivo del macho, basado en lo siguiente: (a) el estrógeno se establece en altas concentraciones en el fluido de la red testicular; (b) los conductos eferentes tienen la concentración más alta de receptores de estrógeno que en algún otro órgano examinado a la fecha; y (c) la función de los conductos eferentes es la de reabsorber aproximadamente el 90% de los fluidos lumbales (Hess, 2001). Los estrógenos exógenos tienen su blanco en las células de Sertoli y en pasos de diferenciación específicos de las células germinales en el testículo de ratón adulto (Toyama, 2001).

El estradiol ( $E_2$ ) juega papeles esenciales en el desarrollo y fisiología del sistema reproductivo de la hembra y el macho. La síntesis de estrógeno es catalizada por un miembro microsomal de la superfamilia P450, aromatasas P450 (P450<sub>arom</sub>, el producto del gen CYP19) (Gurates, 2003). La aromatización local de la testosterona a estrógeno es una ruta alternativa por la cual la testosterona puede regular la función reproductiva del macho. Se han detectado varios genes que regulan la expresión de la testosterona y los estrógenos, C3, SGP-2, PARM-1, ARA<sub>70</sub>, DES o ICI (Turner, 2001). La presencia de estrógenos en las gónadas del macho es conocida desde los pioneros trabajos de Zondek en el caballo semental; realmente las hormonas femeninas están entre esos factores paracrinos testiculares, las cuales pueden ejercer una fina sintonización de algunos pasos en el proceso espermatogénico, el número de células germinales madre y maduración de las espermátidas (Carreau, 2002)

Se han detectado receptores de estrógeno (ER) en el testículo del hombre, el ER $\beta$  se detectó en el núcleo de las células de Sertoli y de Leydig, mientras que el ER $\alpha$  se detectó solamente en las células de Leydig, estos receptores también se encuentran en los conductos eferentes y próstata (Pelletier, 2000; Tayama, 2001). Reportes previos indican que ambos ER $\alpha$  y  $\beta$  están expresados en el epidídimo. Otros reportes señalan que en ratones adultos que carecían del ER $\alpha$ , exhibían un tamaño testicular disminuido y eran infértiles, mientras que los ratones deficientes en el ER $\beta$  podían reproducirse normalmente (Pelletier, 2000). El orden para ejercer un papel biológico, está en que los estrógenos testiculares deben interactuar con receptores de estrógeno, los cuales a su vez modulan la transcripción de genes específicos (Carreau, 2002).

Los nucleótidos son mediadores extracelulares de respuestas biológicas importantes en muchos tipos de células. Recientemente se ha evidenciado el papel del nucleótido extracelular, ATPe, dentro del testículo como regulador de importantes funciones en las células testiculares por la vía de la activación de receptores purinérgicos P2 específicos localizados sobre la membrana plasmática del espermatozoide humano y en las células de Leydig y células de Sertoli de la rata, en ésta última se estimula la secreción de estradiol y de  $[Ca^{2+}]$  (Rossato, 2001; Ko, 2003).

#### *g) Proteínas reguladoras de las Células de Leydig (LCSF).*

La secreción de un producto funcionalmente identificado como factor estimulador de la célula de Leydig se incrementa por efecto de la FSH para estimular la esteroidogénesis en las células de Leydig y puede ser una sustancia paracrina que es un vínculo de comunicación entre las células de Leydig y de Sertoli (Bardin, 1994). El polipéptido como la GnRH, se cree que es sintetizado por las células de Sertoli y esto podría modular la actividad de las células de Leydig (De Reviere, 1990).

#### *h) Enzimas.*

La biosíntesis de las hormonas esteroideas adrenales y gonadales requieren de las actividades de varias *enzimas P450 citocromo*. Estas enzimas, miembros de un citocromo P450 de familia multigen, son proteínas contenedoras de heme que funcionan como oxidasas terminales en un transporte de electrones. La P450<sub>arom</sub> es la oxidasa terminal en la síntesis de estrona y estradiol desde la androstenediona y testosterona, respectivamente.

Esta enzima está asociada con el retículo endoplásmico liso y se establece en varios tejidos, incluyendo las células de Leydig, células de Sertoli, células ováricas de la granulosa, placenta y tejido adiposo (Payne, 1991; Brodie, 2001).

La biosíntesis de estrógenos desde los andrógenos es catalizada por la enzima clave llamada *aromatasa* (Brodie, 2001; Carreau, 2002) compuesta de una forma específica desde el citocromo P450 aromatasa (P450arom) y una flavoproteína, la reductasa P450 citocromo-NADPH. La P450arom es el producto de un gen único llamado *CYP19* el cual pertenece a la superfamilia del gen citocromo P450. En las células de Sertoli de la rata la expresión del gen P450arom es regulada por la FSH (vía AMPc) y andrógenos (Carreau, 2002). La expresión del P450arom en el ovario y testículo esta regulada por la vía de un promotor proximal, promotor II. La actividad del promotor II en las gónadas esta regulada por la FSH y un AMP cíclico (AMPc) dependiente de mecanismos insignia que dan origen a una interacción del promotor II gonadal con los factores de transcripción, proteína ligadora de elemento sensible al AMPc (CREB) y el factor esteroideogénico-1 (SF-1) (Gurates, 2003).

La regulación del promotor II del gen P450arom humano por el WTI (Gen supresor del tumor de Wilms), el DAX-1 (Gen 1 del cromosoma X) y el SF-1 se ha demostrado en las células de la granulosa y en las células de Sertoli (Gurates, 2003).

Algunos datos han demostrado que el hipotiroidismo da como resultado un nivel incrementado de T<sub>3</sub>, la cual inhibe dramáticamente a la aromatasa. Los efectos inhibitorios de la hormona tiroidea sobre la respuesta de estradiol a la FSH han sido localizados más allá de la formación del AMPc. Estos efectos son debidos a la actividad reducida de la aromatasa con toda probabilidad consecuente al tratamiento con T<sub>3</sub> (Ando, 2001). Los efectos bioquímicos de la tri-yodotironina (T<sub>3</sub>) en vivo como in vitro demuestran que las células de Sertoli son el medio testicular blanco para la hormona tiroidea. Concerniente al mecanismo de acción de T<sub>3</sub>, varios sitios primarios blanco dentro de la célula han emergido, incluyendo el núcleo, mitocondria, citoplasma y la membrana plasmática (Volpato, 2004).

El *activador de plasminógeno* se ha demostrado en las células de Sertoli y podría jugar un papel en la interacción entre éstas y las células germinales, específicamente cuando las células meióticas entran al compartimiento adluminal, es una enzima proteolítica, presente en la parte apical de la célula rodeando al tiempo de la espermiación y en la parte basal cuando los espermatoцитos primarios preleptoteno dejan la lámina basal para entrar al compartimiento intermedio (De Reviers, 1990). La actividad de ésta enzima es estimulada por la FSH o AMPc dibutilil en medio de cultivo. Se ha propuesto que las Pas están involucradas en la reestructuración del tejido y los procesos de migración celular en tejidos normales. En el tejido reproductivo puede jugar un papel en facilitar la liberación de cada una de las espermátidas por las células de Sertoli o la migración de las células germinales (principalmente espermatoцитos preleptoteno) desde el compartimiento basal hacia el adluminal del túbulo seminífero abriendo la oclusión de las uniones inter-Sertoli. La enzima podría también participar en remodelar el epitelio seminífero. Los estudios sugieren que la secreción cíclica del activador de plasminógeno esta relacionada a los estados del ciclo espermatogénico (Bardin, 1994).



La *L-ornitina descarboxilasa* está confinada para soporte de las células de Sertoli, sugiriendo que éstas produzcan la *putrescina* la cual es transferida hacia las espermatidas (De Reviers, 1990).

*i) SCF/c-kit.*

El c-kit es un proto-oncogen involucrado, entre otras cosas, en la hemopoyesis. La mutación en el gen c-kit se dirige hacia el no desarrollo de las células germinales primordiales en ratones mutantes pero, más interesantemente, el RNAm c-kit está también expresado en la espermatogonia postnatalmente. Este gen es expresado en las células de Sertoli del ratón adulto (Sharpe, 1994; Griswold, 1999). Lo que controla la supervivencia y muerte de las células germinales permanece incierto (Russell, 1999; Helal, 2002). Una posibilidad es que los factores de sobrevivencia como el c-kit son limitantes en los testículos (Helal, 2002).

El factor de la célula madre (SCF) es producido por las células de Sertoli e interactúa con su receptor, c-kit, sobre la espermatogonia, espermátocitos, espermátidas y células de Leydig en el testículo de rata. Numerosos estudios sobre la función de SCF durante el desarrollo testicular han demostrado que es un factor crítico para el desarrollo de la célula germinal, en luz de ésta capacidad de estimular la proliferación y promover la supervivencia de la célula germinal primordial y espermatogonia. Un estudio revela que la interacción SCF/c-kit puede proteger no solamente a la espermatogonia sino también a los espermátocitos y espermatidas de la apoptosis, proliferación de la célula germinal y su diferenciación (Yan, 2000). Los tipos de células germinales que sufren de apoptosis en la ausencia de SCF son principalmente los espermátocitos y las espermátidas. La apoptosis de la célula germinal esta regulada por miembros de la familia Bcl-2 expresados en los testículos de adulto, la Bax fue inmunohistoquímicamente detectada en la células de Sertoli y espermatogonia, la Bcl-2 fue localizada en las células de Sertoli, espermatogonia y espermátocitos (Yan, 2000).

*j) Antígeno H-Y.*

Es una proteína macho-específica que se liga a los receptores sobre las células de Sertoli de la gónada primordial. Los receptores específicos para el antígeno H-Y están establecidos sobre células ováricas y testiculares pero no sobre células de tejidos extragonadales. Es de notarse que ninguna de las proteínas secretadas por las células de Sertoli reacciona específicamente con anticuerpos H-Y (Bardin, 1994).

*k) Substratos metabólicos.*

Las células de Sertoli controlan el ambiente de todas las células germinales no espermatogénicas y uno de los requerimientos clave, es la energía, la cual la célula de Sertoli proporciona, primariamente en la forma de lactato y piruvato más que de glucosa, y esto puede estar bajo el control de la FSH, al menos, en la rata inmadura. A causa de que la insulina juega un papel importante en regular la glucosa en el metabolismo de todas las células, incluso las células de Sertoli (Sharpe, 1994; Goddard, 2003).

Las células de Sertoli secretan lactato producido desde la glucosa sérica como energía para las células germinales principalmente, espermatoцитos y espermátidas (Johnson, 1999; Riera, 2001; Goddard, 2003). En las células de Sertoli de la rata, la producción de lactato esta bajo el control de la FSH, factor de crecimiento epidérmal, insulina y factor-I de crecimiento semejante a la insulina (IGF-I), tri-yodotironina y por el factor de crecimiento de fibroblastos (bFGF); en el porcino, está bajo el control de la FSH, factor de crecimiento transformante  $\beta$  (TGF $\beta$ ), EGF/TGF $\alpha$ , IL1 y TNF $\alpha$  (Riera, 2001).

El mismo testículo depende altamente sobre la oxidación de la glucosa, el fluido de la red testicular contiene muy poca glucosa y fructosa. El significado metabólico de estos carbohidratos para el esperma testicular es todavía incierto. Hay evidencia de que en la rata, el lactato y piruvato producido por las células de Sertoli, son significantes substratos para las células germinales en cultivo y el lactato está presente en el RTF de las ratas y de carneros y toros. El lactato es esencial para mantener la producción de ATP por las células germinales. El O<sub>2</sub> captado por el esperma testicular del carnero fué estimulado por la fructuosa, lactato y acetato, pero el lactato y fructuosa no tienen efecto sobre el esperma testicular del verraco. Las células de Sertoli sintetizan mioinositol desde la glucosa (De Reviers, 1990).

#### *l) Lípidos.*

Al degenerar las células germinales, el citoplasma residual de la espermátida ha sido considerado para proporcionar la fuente de inclusiones lipídicas que se acumulan dentro de la célula de Sertoli (Johnson, 1999). Sin embargo, no hay un vínculo definido entre la fagocitosis del citoplasma residual y el contenido de las inclusiones lipídicas que haya sido demostrado. En consecuencia, parece ser que éstas células son capaces de sintetizar lípidos en la ausencia de una contribución de sustratos desde las células germinales degeneradas. En ésta conexión, enzimas del retículo endoplásmico liso son tal vez responsables en la síntesis de lípidos desde el glicerol y ácidos grasos, los cuales, en esterificación dentro de la célula, llegan a ser visibles como inclusiones lipídicas (Bardin, 1994).

#### *m) Fosfodiesterasas (PDEs).*

La diferenciación y función de las células gonadales están controladas por un complejo de estímulos endocrinos, paracrinos y autocrinos. Estos estímulos externos son recibidos y elaborados por células gonadales por medio de un complejo igualmente formado de senderos de mensajeros secundarios intracelulares. Un constante flujo de información a través de esos senderos es necesaria para mantener las funciones endocrinas y gametogénicas de las gónadas (Conti, 1991).

Las gonadotropinas están entre las más importantes señales controladoras de la función celular gonadal. Estas hormonas pituitarias se unen a la superficie en los receptores acoplándose para un sistema de transducción de señales de la membrana que transfiere la señal hormonal dentro de la célula. Una mayor señal resulta de la activación del receptor de la gonadotropina, es la *proteína estimuladora del guanin nucleótido* (G<sub>s</sub>)- activación mediada del adenilato ciclasa. Esta enzima ligada a la membrana, cataliza la síntesis del segundo mensajero AMPc. Mientras tanto la difusión desde el sitio de síntesis, el AMPc ya

sea que se ligue y active a la protein kinasa o es degradada e inactivada por el nucleótido cíclico *fosfodiesteras (PDEs)* (Conti, 1991).

El balance entre estos dos eventos determina la mayoría de los efectos biológicos de las gonadotropinas. Mientras tanto, extensivos estudios han sido conducidos para examinar la activación de la protein cinasa dependiente del AMPc, donde se ha tenido poca atención para el entendimiento de cómo las PDEs y la degradación del nucleótido ciclico son regulados en las células gonadales (Conti, 1991).

Las PDEs juegan un papel en la regulación del AMPc. Para entender la función de los caminos degradadores del AMPc de las células gonadales, las formas de PDE expresadas en éstas células han sido separadas y caracterizadas. Las dos formas mayores de PDE expresadas pertenecen a las familias de las *PDEs activadoras de la Calmodulina (CaM PDEs)* y las *PDEs específicas del AMPc (AMPcPDEs)* (Conti, 1991).

Al menos 4 genes homólogos de las PDEs están expresados en el testículo de la rata. Los productos de estos genes bien están referidos como *ratPDE1*, *ratPDE2*, *ratPDE3* y *ratPDE4*. Sin embargo, muchas líneas de evidencia indican que la *ratPDE1* y la *ratPDE2* están preferencialmente expresadas en la línea germinal, mientras que la *ratPDE3* y la *ratPDE4* están expresadas en las células somáticas del epitelio seminífero (Conti, 1991).

Se ha demostrado que un incremento en la actividad de la AMPc PDE coincide con el comienzo de la refractoriedad de la célula de Sertoli. La refractoriedad de la célula de Sertoli es reversible si las células están expuestas a diferentes inhibidores de la PDE, indicando el incremento observado en la actividad de la PDE tiene un papel mayor en regular la sensibilidad de la célula de Sertoli a las hormonas. Se considera que la FSH produce más de 10 veces incremento en la actividad en las células de Sertoli inmaduras en cultivo, puede ser concluido que la inducción de la AMPc PDE puede ser en si misma una causa mayor de pérdida de respuesta. En suma al papel durante la regulación aguda de respuesta de la FSH, un incremento en la actividad de la PDE pudiera causar los cambios en respuesta de la célula de Sertoli que ocurre durante la maduración testicular. Se ha demostrado que la acumulación de AMPc dependiente de la FSH en la célula de decrece progresivamente durante la maduración testicular. Un incremento en la actividad de la AMPc PDE ocurre en la célula de Sertoli durante el desarrollo testicular. Además, la respuesta a la FSH puede ser, al menos en parte, restaurado por los inhibidores de la PDE. Por lo tanto, un cambio en la adenil ciclasa y en la PDE son probablemente responsables por esta pérdida en la respuesta durante la maduración (Conti, 1991).

En conclusión, los datos revisados anteriormente demuestran que la degradación del nucleótido ciclico en las células gonadales es acarreado por un complejo en fila de fosfodiesterasas. Esta función de la inactivación del segundo mensajero no está constitutivamente expresada en las células gonadales. La actividad de las PDEs está regulada por las gonadotropinas y su activación juega un papel importante en la regulación de la respuesta celular a diferentes estímulos externos (Conti, 1991).

#### n) Vitaminas.

A. La marcada degeneración de las células germinales postmeióticas que acompañan a la depleción de la vitamina A probablemente sugieren que la función deteriorada de la célula de Sertoli es un importante factor. La bioquímica del metabolismo de la vitamina A y su acción es bastante compleja pero involucra dos proteínas ligadoras intracelulares, la proteína ligadora de retinol celular (CRBP) y la proteína ligadora de ácido retinoico celular (CRABP) (Bardin, 1994; Sharpe, 1994), así como también una variedad de receptores de ácido retinoico y receptores relacionados (retinoides-X). La CRBP parece estar localizada exclusivamente en las células de Sertoli, mientras que la CRABP se localiza preferencialmente en los espermatozoides paquíteno y en las espermátidas, y en muy bajas cantidades, probablemente en la espermatogonia (Sharpe, 1994).

D. Hay pocos estudios sobre los efectos de la vitamina D y sus análogos sobre las funciones de la célula de Sertoli *in vivo* o *in vitro*. Varios estudios sugieren que los receptores de vitamina D<sub>3</sub> están localizados en un componente no germinal de los túbulos seminíferos, probablemente las células de Sertoli (Bardin, 1994).

E. Otra vitamina lipoidal que afecta a las células de Sertoli es la vitamina E. Esta sustancia no tiene efecto sobre la producción de transferrina para las células de Sertoli, sino que influye en la secreción de rABP. En adición, la vitamina E influye en la eficacia y multiplicación de las células de Sertoli inmaduras en cultivo (Bardin, 1994). En ratas la deficiencia de vitamina E, produce un daño irreversible a los túbulos (Waites, 1990).

#### ñ) Zinc.

La deficiencia de Zinc produce efectos específicos sobre el testículo y está asociado con la secreción de gonadotropina normal o elevada. El Zinc es un constituyente de un número de enzimas presentes en el testículo y también inhibe la ribonucleasa. El metal es incorporado hacia el espermatozoide durante los últimos estados de la espermiogénesis (Waites, 1990). Su papel se desconoce parcialmente (De Reviers, 1990).

#### o) Calmodulina/Ca<sup>2+</sup>.

El calcio está involucrado en la regulación de varios procesos celulares incluyendo la motilidad, secreción, división, forma celular y regulación enzimática. El calcio ejerce muchas de estas acciones por medio de la proteína *calmodulina*, la cual está presente en las células de Sertoli y actúa como un receptor intracelular para el calcio. El cambio en la forma celular es controlado por microfilamentos conteniendo actina y tubulina y posteriormente se demostró su asociación con la secreción del ABP (De Reviers, 1990). Tanto el AMPc como el Ca<sup>2+</sup> se cree que están involucrados en la secreción celular (De Reviers, 1990; Ko, 2003). El calcio se identificó como el primer mensajero para la acción de la T3 a nivel de la membrana plasmática. Se sugiere que el calcio está involucrado en la regulación del efecto de hiperpolarización de T3 sobre las células de Sertoli. Se ha demostrado el involucramiento de canales de K<sup>+</sup> y calcio extracelular en el efecto de T3 sobre la acumulación de aminoácido y sobre la potencial membrana de la célula de Sertoli (Volpato, 2004).

p) *Testibumina (CMB-1)*.

Es una proteína que responde sinérgicamente a la FSH y testosterona en cultivos enriquecidos con células de Sertoli y fué identificada como CMB-1. Esta puede ser la homóloga de la albumina del compartimiento adluminal del testículo (Bardin, 1994).

q) *Proteínas ligadoras de Metal*.

Muchos investigadores han demostrado que las células de Sertoli secretan proteínas transportadoras de hierro y cobre. Estas proteínas han sido llamadas *Transferrina Testicular* y *Ceruloplasmina*, respectivamente. La presencia de ambas proteínas en el fluido tubular sugiere un mecanismo por el cual el hierro y el cobre pueden ser transportados a las células germinales en el compartimiento adluminal (Bardin, 1994).

Una de las proteínas mayormente secretadas desde las células de Sertoli, es la transferrina (De Reviere, 1990; Johnson, 1991), que se liga preferencialmente a los espermatoцитos paquitenos pero también a las espermátidas redondas. Es estimulada por la FSH, insulina, testosterona, retinol, ácido retinóico y por suero y albumina sérica del ratón (De Reviere, 1990; Bardin, 1994). Es una proteína transportadora de hierro rodeando los complejos de unión herméticos para las células germinales en desarrollo (Griswold, 1999). Esta proteína también promueve, el óptimo crecimiento de la célula de Sertoli (Bardin, 1994).

r) *Clusterina*.

Fritz et al. reportaron la presencia de una macromolécula en el fluido de la red testicular del camero, la cual se obtuvo de las células de Sertoli de ratas inmaduras, células de Sertoli TM<sub>4</sub> (una línea de célula de Sertoli del ratón) y eritrocitos de varias especies. La clusterina purificada del fluido de la red testicular del camero es una glucoproteína dimérica que contiene 36% de carbohidrato. La proteína es sintetizada y secretada por las células de Sertoli (Bardin, 1994). Es una proteína glicosilada, la cual causa la aglutinación de varios tipos de células en cultivo, representa cerca del 20% del total de las proteínas (Johnson, 1991). Del contenido proteínico total en el fluido de la red testicular del ovino, representa el 18%. Es un factor de agregación celular de  $M_r$  80 000 (De Reviere, 1990). No está limitada a la especie ovina. La función fisiológica de la clusterina es desconocida, sin embargo, ésta podría actuar para facilitar las interacciones célula-célula. Se ha identificado en la sangre del camero, sugiriendo que ésta pudiera tener algunas acciones fuera del tracto reproductivo (Bardin, 1994).

s) *Interleucina-I (IL-1)*.

Es una citocina de especial interés, que consiste de dos isotipos agonistas, IL-1 $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , y naturalmente aparecen antagonistas, antagonista receptor de IL-1 (IL-1ra). Testículos de ratas de diferentes edades producen factores de crecimiento de las células de Sertoli. En el testículo puberal y adulto, el factor de crecimiento de mayor abundancia de las células de Sertoli fue identificado como IL-1 $\alpha$ . Esta tiene una mayor eficacia que la FSH en estimular la proliferación de ésta célula (Petersen, 2002). La fagocitosis de cuerpos residuales o citoplasma de las espermátidas elongadas o incluso la fagocitosis de burbujas de latex, inducen secreción de IL-1 por éstas células in vitro. En el ciclo espermato-genético de la rata,

la fagocitosis de los cuerpos residuales en el estado VIII y su digestión lisosomal en el estado IX dispara la producción de IL-1, la cual a su vez estimula la primera división de la espermatogonia tipo A<sub>1</sub>. La secreción de IL-6 por las células de Sertoli en respuesta a los efectos autocrinos de la IL-1 podrían estar también involucrada en ésta cascada (Sharpe, 1994).

Un factor como la interleucina I (IL-1) se ha demostrado ser producido por los túbulos seminíferos del hombre y la rata, y la evidencia sugiere que ésta probablemente se origina desde las células de Sertoli. En la rata, la secreción de IL-1 por los túbulos seminíferos se incrementa durante la maduración sexual, varía de acuerdo al estado del ciclo espermatogénico y parece correlacionarse con el incremento en la síntesis de DNA por diferenciación de la espermatogonia (Sharpe, 1994). En el porcino y en la rata, la interleucina-1 $\beta$  y la FSH incrementan la producción de lactato en las células de Sertoli (Riera, 2001).

#### *t) Factores de Crecimiento.*

La actividad del factor de crecimiento ha sido observado en el fluido de la red testicular del ovino y su concentración en extractos testiculares decrece con la edad. El *factor de crecimiento del túbulo seminífero (SGF)* es un polipéptido hidrofílico, aniónico, teniendo un peso molecular monomérico de 15 700. No parece estar controlado por hormonas pituitarias y es capaz para estimular la mitosis de las células de Sertoli in vitro (De Reviere, 1990). La función fisiológica de ésta proteína es desconocida; sin embargo, se presume que esté involucrada en la regulación de la proliferación celular en desarrollo (Bardin, 1994).

Otro factor de crecimiento ha sido identificado en cultivos enriquecidos con células de Sertoli, es la *Somatomedina-C*, la cual actúa sinérgicamente con la FSH (Sharpe, 1994). Los *gránulos de Somatomedina-C* han sido observados en células de Sertoli y espermatocitos paquiteno (De Reviere, 1990). Es altamente probable que este factor tenga un efecto sinérgico con la FSH sobre las células de Sertoli (Bardin, 1994).

En adición al control hormonal por las gonadotropinas y testosterona, un número de factores de crecimiento producidos localmente y otros mediadores paracrinos se han sugerido para jugar un papel importante en la regulación de la función testicular, entre tales factores, el factor de crecimiento epidermal (EGF-GFs) y el factor de crecimiento transformante- $\alpha$  se han implicado como reguladores del desarrollo de la célula germinal, importantes reguladores paracrinos de la espermatogénesis (Wahlgren, 2003). El factor de crecimiento transformante- $\alpha$  (*TGF- $\alpha$* ) tiene efecto estimulador sobre la proliferación de la célula de Sertoli (Petersen, 2002). El *TGF- $\alpha$*  a una estimulación de DNA se sintetiza en las células de Sertoli. Se ha demostrado que la *TGF- $\alpha$*  estimula la proliferación de éstas células inmaduras in vitro, mientras que los factores de crecimiento SCF, FGFA, FGFb, IGF-1 y EL IGF-II se alistan para producir efectos significativos similares y sus receptores son expresados en células testiculares durante éste estado de desarrollo, aunque no siempre localizados en los epitelocitos sustentaculares (Petersen, 2001).

Un factor neurotrófico derivado de la línea celular glial (GDNF) fue el primer miembro de una nuevo factor de crecimiento transformante subfamilia- $\beta$ , conocido como familia ligadora del GDNF (GFL). El GDNF, una de sus funciones es darle el destino celular de la

espermatogonia indiferenciada. Otro miembro de la GFL es la neurturina (NRTN) y promueve la supervivencia de poblaciones neuronales en el sistema nervioso central y periférico. La NRTN y el GDNF son expresados en las células de Sertoli y ellas promueven la proliferación espermatogonial *in vitro*. La observación histológica sugiere también que la NRTN regula la producción del fluido testicular y su reabsorción (Meng, 2001).

#### u) CREB/CREM.

Se ha visto que los caminos de transducción dependientes del AMPc son mayores mecanismos regulatorios que operan en diferentes estados de la espermatogénesis. La regulación de los genes de expresión es ejercida por la vía de una familia de factores de transcripción nuclear que contienen un básico dominio de leucina que habilita la dimerización y vincula a un elemento DNA *cis*, designado como elemento sensible-AMPc (CRE). Los dos miembros predominantes de ésta familia, que se han demostrado para funcionar durante la espermatogénesis son, proteína ligadora de elemento sensible al AMPc (CREB) y elemento modulador sensible al AMPc (CREM). Un rasgo característico del gen CREM es la existencia de otra isoforma CREM, llamada represor primario de AMPc inducible (ICER). La supervivencia de la célula germinal depende del factor de supervivencia mediada por el CREB producidos por las células de Sertoli (Don, 2002).

El nivel de transcripciones del CREB fluctúa en una manera cíclica que depende de las asociaciones celulares específicas a lo largo de la onda espermatogénica. El RNAm CREB Sertoli está presente en los estados I-VIII de la espermatogénesis de la rata, aunque es más alto en los estados II-V y decrece a niveles indetectables en los estados IX-XIV (Don, 2002).

Los niveles del CREB son altos en las células de Sertoli durante los primeros ocho estados, se caracterizan por la presencia de las espermátidas redondas haploides. Estudios anteriores muestran que las espermátidas redondas secretan el factor de necrosis tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) que es detectado por receptores de TNF- $\alpha$  sobre las células de Sertoli (Don, 2002). Estas células también secretan TNF- $\alpha$ , uno de los mayores estimuladores para la producción de lactato del porcino (Riera, 2001) y sugiere que la TNF- $\alpha$  basada en la comunicación cruzada entre las espermátidas redondas y las células de Sertoli mantiene altos niveles de CREB, tanto que puede inducir la producción de factores requeridos por las espermátidas y espermátocitos. Una vez que la onda espermatogénica alcanza el estado en donde las espermátidas redondas no están asociadas con las células de Sertoli, el efecto paracrina de la TNF- $\alpha$  se detiene, la actividad de NF- $\kappa$ B en las células de Sertoli es reducida y el nivel de ICER que para este estado es bastante alta, declina el CREB a niveles basales (Don, 2002).

#### v) Metaloproteinasas de la Matriz (MMPs).

Son una familia de proteínas relacionadas estructuralmente que degradan muchos, sino es que todos los componentes de la matriz extracelular y membranas bajas en una manera dependiente del zinc a un pH fisiológico. Pueden afectar la migración celular por cambio de las células desde un fenotipo adhesivo hacia un no-adhesivo. Las MMPs pueden alterar el microambiente de la ECM dirigiéndose a la proliferación celular, apoptosis o morfogénesis.

Las MMPs pueden modular de las moléculas biológicamente activas tales como los factores de crecimiento o receptores de factor de crecimiento, para enclavar o liberar aquellas de la ECM. Las MMPs pueden alterar el balance de la actividad de la proteasa para enclavar enzimas o sus inhibidores y la acción de las MMPs está limitada o regulada por uno o varios de cuatro distintos inhibidores de tejido de las metaloproteínas (TIMPs 1-4) (Longin, 2002). Las MMPs juegan un papel en la regresión del ducto Mülleriano. Se sugiere que la MMP2 es uno de los primeros genes blanco-AMH involucrados en la regresión del ducto Mülleriano (Visser, 2003).

Los procesos de desarrollo que involucra a las MMPs y TIMPs ocurren probablemente en las células de Sertoli dentro del testículo. La mayoría de las observaciones, ponen en pie la posibilidad de que hormonas y factores locales regulan la expresión y actividad de las MMPs y TIMPs en estas células y actúan como mediadores críticos de los cambios estructurales que éstas mismas sufren durante el desarrollo y la vida adulta. Las gelatinasas, MMP-2 y MMP-9, son secretadas por las células de Sertoli (Longin, 2002).

#### w) *Dinaminas.*

Es una proteína de la familia de las GTPasa y existen más de 25 isoformas. La dinamina 3 fue la primera identificada como isoforma específico-testicular. La dinamina 2 y 3 se expresan y se localizan en las células germinales y de Sertoli. Estas dos dinaminas tienen distintas funciones en las células de Sertoli. La dinamina 2 se ha implicado en la endocitosis y adicionalmente en la formación de vesículas hacia el Golgi (Kamitani, 2002)

### 9. Regulación Hormonal

La espermatogénesis esta regulada por la vía de la estimulación directa de la gonada por las hormonas pituitarias y la secreción de las hormonas pituitarias están a su vez controladas por la vía de retroalimentación desde los productos de las gónadas. Los componentes de este eje pituitario-testicular incluyen a la LH y FSH desde la pituitaria y a la testosterona e inhibina desde el testículo (Griswold, 1999) (*Figura 19*).

La célula de Sertoli adulta o madura posee receptores para la hormona foliculoestimulante (FSH o Folitropina) sobre su superficie (Griswold, 1999) y receptores para la testosterona dentro de su núcleo, variando sus niveles de acuerdo al estado del ciclo del epitelio seminífero (Quian, 1999; Griswold, 1999; Murray, 2000; Regadera, 2001; Xing, 2003). La testosterona es producida en las células de Leydig en respuesta a la secreción y ligadura de la hormona luteinizante pituitaria (LH) hacia la superficie de las células de Leydig. Después de la depleción de la FSH y la LH, el tamaño de la célula de Sertoli decrece dramáticamente, conforme la muerte apoptótica de las células germinales se incrementa (Griswold, 1999). Los efectos de la FSH sobre la célula de Sertoli en el testículo del adulto son estado dependientes. Los niveles del receptor de FSH y su RNAm son más altos en los estados XIV y I, pero es más importante la respuesta de la célula de Sertoli a la estimulación de la FSH, en terminos de producción de AMPc, es dramáticamente más alto en los estados XIV-VI y a un nadir en los estados VII-VIII. Sin embargo, la FSH probablemente no es el único factor que modula el número de espermatogonias para entrar en meiosis, porque se debe recordar que los túbulos

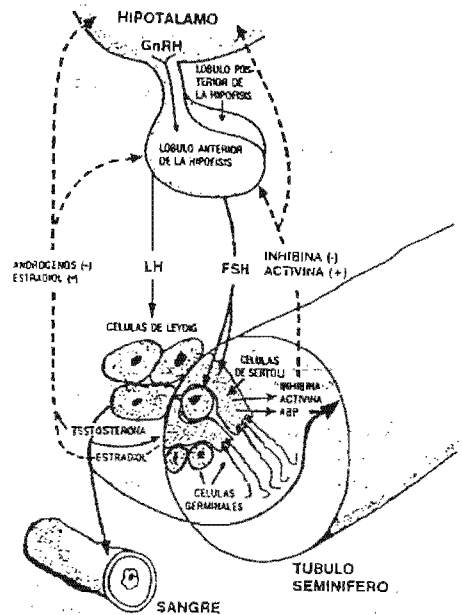


seminíferos de la rata adulta responden muy pobremente a la estimulación de la FSH (Bardin, 1994).

Las acciones de la FSH sobre funciones diversas como metabolismo energético, secreción de proteínas, forma celular y división celular están mediadas por la vía de segundos mensajeros incluyendo el AMPc y el  $Ca^{2+}$ . Está bien establecido que algunas de las acciones de la FSH están mediadas por la vía del sistema proteína cinasa-adenilato ciclasa. Para incrementar la síntesis del AMPc, la FSH también afecta varios componentes de éste sistema, como la fosfodiesterasa y niveles inhibidores de la proteína cinasa, así como también, la fosforilación por sí misma de la proteína (Bardin, 1994).

La regulación hormonal de la espermatogénesis es que la FSH y la testosterona parecen controlar muchos de las funciones metabólicas básicas de la célula de Sertoli que son esenciales para una espermatogénesis normal. Usualmente durante la pubertad o en los últimos estados de desarrollo estacional de la espermatogénesis hay un switch desde la FSH hacia la dependencia de testosterona, tal vez relacionada a los cambios en el número de receptores de andrógeno, la secreción de ABP o la aparición de un tipo de célula germinal en particular. El traslape en las funciones controladas por la FSH y testosterona probablemente explican porqué en muchas especies una sola hormona puede mantener cualitativamente la espermatogénesis completa (Bardin, 1994).

Fig. 19. Control endocrino del funcionamiento testicular en mamíferos. El hipotálamo secreta GnRH, que estimula la secreción de LH y FSH a partir del lóbulo anterior de la hipófisis. La LH estimula las células intersticiales de Leydig para que produzcan andrógenos, principalmente testosterona. Los andrógenos son secretados en el torrente sanguíneo, donde causan el desarrollo de las características sexuales secundarias del macho y el desarrollo y mantenimiento del aparato reproductor masculino y suprimen la secreción de GnRH, LH y FSH por retroalimentación negativa sobre hipófisis e hipotálamo. La testosterona también es secretada en el túbulo seminífero, donde es necesaria para el mantenimiento de la espermatogénesis. La FSH interactúa con receptores en las células de Sertoli para causar la producción de proteína de unión a andrógeno (ABP), la conversión de testosterona en dihidrotestosterona y estrógeno, la estimulación de la espermatocitogénesis, la terminación de la liberación de espermatozoides (espermia) y la secreción de inhibina. La inhibina secretada en el torrente sanguíneo tiene un efecto de retroalimentación negativa sobre la FSH, pero no sobre la LH (Hafez, 2002).



## 10. Variación de las actividades de la célula de Sertoli en relación al ciclo seminífero de la rata.

Dentro de cada estado la función de las células de Sertoli es algo diferente, sus funciones cambian de acuerdo al complemento con la célula germinal, con las cuales ellas están asociadas (Bardin, 1994).

### *a) Actividades en los estados I-VI*

La variación cíclica en la unión de la FSH a las células de Sertoli ocurre al máximo en los estados I-VI del ciclo del epitelio seminífero. Hacia los mismos estados hay máxima producción de AMPc en la presencia de metilisoantina, con o sin estimulación por la FSH. Las actividades de ácido fosfatasa y tiamina pirofosfatasa son mayormente establecidas en el citoplasma de la célula de Sertoli desde los estados XII-IV y nuevamente las espermatidas elongadas han penetrado profundamente hacia el citoplasma de la célula de Sertoli. Las vesículas ligadas a la membrana son observadas en la parte basal del citoplasma de la célula. Las uniones tubulobulbares entre las células de Sertoli adyacentes o entre las células de Sertoli y las espermatidas elongadas están a su máximo durante el estado V (De Reviere, 1990).

### *b) Actividades en los estados VII-IX*

Durante los estados VII al IX, las concentraciones de andrógenos intratubulares, progesterona y ABP son máximos. La distribución de la actividad de la fosfodiesterasa es similar al del ABP. El total de secreciones de proteínas marcadas de metionina- $[^{35}\text{S}]$  son observadas en dos picos específicos; uno, en el estado VI, es posiblemente relacionado al activador de plasminógeno y el segundo es durante el estado XII. Este estado se caracteriza también por el incremento en la transcripción del RNA en los espermatoцитos primarios paquitenos. Los pseudópodos desde la espermatogonia tipo B penetran al citoplasma de la célula de Sertoli y rodeadas por cuerpos densos posiblemente relacionados a la actividad de la fosfatasa ácida son observados durante los estados VII-VIII. En los mismos estados la enzima convertidora de angiotensina con  $[^3\text{H}]$ captopril muestra marcaje sobre las cabezas del espermatoцитo elongado. Durante los estados VIII-IX, el citoplasma de la célula de Sertoli tiene liberado Zn por los cuerpos residuales después de la espermiación. El zinc es transferido al compartimiento basal y no se detecta sino hasta el estado XIV (De Reviere, 1990).

### *c) Actividades en los estados IX-I*

Las concentraciones de vacuolas lipídicas en el citoplasma de las células de Sertoli y de receptores de andrógeno nuclear son máximos durante los estados XII-I (De Reviere, 1990).

ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA

## 11. Patología de las células de Sertoli.

La destrucción de la asociación celular Sertoli-germinal por calor, agentes tóxicos y enfermedades, frecuentemente se dirigen a un rompimiento de la espermatogénesis dándose así la infertilidad (Syed, 2002).

Los signos de las células de Sertoli dañadas son, la vacuolación entre las uniones inter-Sertoli, desprendimiento de las células de Sertoli y retención de las espermatidas tardías (abandonada la liberación del esperma). La degeneración no específica de las células germinales o la multinucleación de las espermatidas puede ser una consecuencia del daño de la célula de Sertoli. Aunque las células de Sertoli pueden ser el sitio primario del daño desde un tóxico, ellas raramente están desorientadas del epitelio seminífero (Russell, 1999).

Las células de Sertoli de testículos viejos son incapaces de responder a señales selectivas de las células germinales de ratas jóvenes y las células germinales de testículos retrógrados son incapaces para responder a señales selectivas de las células de Sertoli. Tales destrucciones de comunicación entre las células de Sertoli y las células germinales probablemente contribuyan a la pérdida de la célula germinal durante el envejecimiento (Syed, 2002).

En los casos de tumores de células de Sertoli, el animal afectado a menudo adquiere características femeninas, como glándulas mamarias aumentadas de tamaño y un tipo femenino de distribución de la grasa (Frandsen, 1995).

## VI. CONSIDERACIONES FINALES DEL OVINO Y CAPRINO

Desde el punto de vista de la producción animal, la perpetuación de la especie no es sino un aspecto del proceso productivo. En la explotación de los animales la reproducción debe ser numerosa y rápida. El hombre necesita que los animales tengan características que alimenten su valor económico y algunas de las que más le interesan son superfluas desde el punto de vista de la perpetuación de la especie (De Alba, 1985).

Desde una perspectiva de agricultura las ovejas y cabras son dentro del ganado, las especies más versátiles, ruminantes sin duda en adaptarse a diversos ambientes de producción y son abastecedores de productos en todo el mundo. La población mundial de ovejas se ha establecido por igual en países desarrollados y en desarrollo, mientras que las cabras residen predominantemente en países en desarrollo (Keisler, 1999).

El inicio temprano de la madurez sexual tiene ventajas económicas porque aumenta el tiempo de vida durante el cual los animales tienen una reproducción activa. Aunque los carneros se pueden aparear todo el año, el peso testicular y las concentraciones de testosterona y gonadotropinas son mínimas de enero a mayo, durante el anestro de la hembra. De modo similar que en macho cabrío la concentración plasmática de testosterona permanece baja de enero a agosto y se eleva súbitamente al inicio de la estación reproductiva (Hafez, 2002). El tamaño testicular es variable entre los carneros y cabríos, el tamaño testicular es una variable importante para tasar en el ható el potencial de selección reproductiva. Se ha estimado que en un carnero o cabrío, aproximadamente 20 millones de espermatozoides son producidos por gramo de tejido por día (Keisler, 1999).

Al igual que en las ovejas dedicadas a la reproducción, en el morueco y en el macho cabrío hay efectos estacionales que se deben comprender para obtener la máxima fertilidad. En ovinos se requiere mayor cantidad de espermatozoides normales y vivos para lograr con éxito la fertilización. Los eyaculados normales de moruecos adultos oscilan en total de espermatozoides entre los 3 a 5 X 10<sup>9</sup> (De Alba, 1985). Los cambios estacionales en el volumen testicular y la producción de espermatozoides están correlacionados con otras características en el macho. El líbido en carneros también cambia con la estación. La capacidad fertilizadora del semen colectado en primavera es menor que la del semen colectado en el otoño (Lindsay, 1991)

La regulación del sistema reproductivo ocurre primariamente a nivel hipotálamo-pituitario, pero las hormonas críticas dependen sobre la estrategia reproductiva de las especies, las gonadotropinas. Este sistema comienza con la retina, la cual, recibe la información de fotoperiodo y finaliza con la glándula pineal, la cual se traduce a un signo endocrino. El fotoperiodo (efecto por la vía de la melatonina) limita la fertilidad controlando la liberación de la hormona gonadotropina (GnRH) desde el hipotálamo. La GnRH es secretada episódicamente. Durante la estación no reproductiva la frecuencia del pulso de GnRH es baja y consecuentemente la secreción de la FSH y la LH es mínima y las gónadas son inactivas (Goodman, 1999; Keisler, 1999).

La información experimental que demuestra de manera más concluyente el control de la reproducción por el fotoperiodo se ha obtenido en ovejas. El fotoperiodo es básicamente un sincronizador de la actividad sexual (Hafez, 2002).

Cuando la relación entre la edad y el número de células de Sertoli por testículo fue examinada hubo un declive significativo relacionado con la edad en la población de la célula de Sertoli. Existe también una correlación significativa entre el número de células de Sertoli y la producción diaria de esperma aunque el número de células germinales acomodadas en las células de Sertoli hacia alguna edad permanece sin cambios (De Kretser, 1994).

## VII. COROLARIO

Durante la vida prenatal y neonatal, la gametogénesis y la esteroidogénesis parecen independientes, mientras que al principio de la pubertad se relacionan estrechamente. Los endocrinocitos intersticiales son sensibles a las gonadotropinas y la continuidad de su actividad esteroidogénica depende estrictamente de la secreción de aquellas. Al iniciarse la pubertad se reanuda la secreción de las gonadotropinas y se reactivan las células de Leydig. Estas células son estimuladas por pulsos de LH hipofisaria para secretar andrógenos. Estos se difunden en los epitelocitos sustentculares adyacente y también se secretan en la sangre donde ejercen retroalimentación tanto en el hipotálamo como en la hipófisis para bloquear la liberación de LH adicional. La otra gonadotropina principal, FSH, estimula la producción de ABP e inhibina por las células de Sertoli (Hafez, 2002).

La hormona tiroidea y la FSH no son probablemente los únicos factores que puedan modular la replicación de las células de Sertoli. La hormona del crecimiento también tiene que ver en la replicación de la célula de Sertoli. El cese de la replicación ocurre al momento de la formación de las uniones celulares inter-Sertoli y formación del lumen y están asociados con varios cambios morfológicos y funcionales los cuales simultáneamente son llamados, maduración (Sharpe, 1994).

La regulación del número de células de Sertoli aparece para ser el principal determinante del tamaño testicular final entre las especies, dentro de las razas de la misma especie y entre los individuos de la misma raza (Sharpe, 1994).

El conocimiento común de la función del epitelocito sustentcular ilustra una progresión importante a través de los años para entender mejor la fisiología del testículo y comprender así la fertilidad del macho. Este conocimiento nos da la capacidad para entender las bases de algunas de las muchas funciones atribuidas a las células de Sertoli *in vivo*, por ejemplo: 1) la naturaleza de su relación con las espermátidas y con sus cambios en la configuración la cual debe ocurrir durante la espermatogénesis y la espermiación (Waites, 1990). La mayoría de los estudios practicados en las pasadas dos décadas investigando las interacciones celulares Sertoli-germinal, ampliamente se enfocan sobre la actividad y función secretoria de cada una de ellas. Esta claro que éstas interacciones célula-célula y los cambios subyacentes en la actividad secretoria de la célula de Sertoli y germinal inicialmente tienen lugar a nivel de las uniones celulares (Cheng, 2002); 2) el control de secreción de fluido y otros aspectos asociados con la barrera hemato-testicular. De mayor importancia aún, es el hecho de la influencia de la célula de Sertoli en la regulación intratubular y extratubular por medio de sus interacciones metabólicas y hormonales con las células germinales, células mioides peritubulares y las células de Leydig (Waites, 1990).

La producción óptima de espermatozoides por los machos es un parámetro mayor de fertilidad y variación entre seres de la misma especie resultado de : a) variación en el número de espermatogonia madre por testículo, la cual esta relacionada al número de células de Sertoli y consecuentemente particularmente determinada por el ambiente hormonal de los túbulos seminíferos antes de la pubertad; b) el rendimiento del proceso espermatogénico el cual está, al menos particularmente, controlado en adultos por las

hormonas gonadales y gonadotróficas. Este control es operado en algún grado por la vía de las células de Sertoli (De reviers, 1990).

Existen varios factores claves que determinan el número de espermatozoides producidos y la modulación de éstos factores claramente tiene importantes implicaciones en terminos de la regulación de la espermatogénesis. El primero y posiblemente el menos conocido, determinante de la capacidad espermática es el número contenido de las células de Sertoli en cada uno de los testículos (Sharpe, 1994).

La espermatogénesis es un largo proceso, por el cual el espermatozoide establecido en el eyaculado es producido. Esta involucra, mitosis para incrementar su producción, la meiosis para reducir el número cromosómico y un ejemplo insuperable de diferenciación celular en la producción del sistema liberador del genoma del macho, el espermatozoide (Johnson, 1991; Hess, 1999).

El epitelio seminífero está caracterizado por la presencia de varios heterocariones de edad y naturaleza diferente, las cuales están en contacto íntimo con las mismas células de Sertoli. Esto indica que las células desarrollan contactos especializados relativos a la naturaleza de las células germinales presentes en diferentes áreas de su citoplasma. La naturaleza del diálogo entre las células germinales y las de Sertoli es particularmente interesante tanto, que la diferenciación celular y la calidad y cantidad de producción de sémen están comprometidos (De Reviers, 1990).

La prolongada y severa desnutrición o malnutrición conlleva a la supresión o cese de la espermatogénesis y un decremento en la calidad del sémen en la mayoría de las especies. Estos efectos están acompañados por disminución del tamaño testicular y glándulas sexuales accesorias. La atrofia de la población intersticial y de las células de Sertoli acompañan a estos cambios (Ferrell, 1991).

Estas aproximaciones deberían dar una apreciación más realista de las respuestas del animal macho hacia el medio ambiente y las consecuencias para la reproducción. En el futuro deberíamos esperar que los nuevos fundamentos de los conocimientos bioquímicos, celulares y moleculares aún sean resintetizados en el contexto de la fisiología animal íntegra (Waites, 1990).

Trabajos para esclarecer el papel preciso de las hormonas y de factores locales como los factores de crecimiento y hormonas como la liberadora de gonadotropina sobre elementos germinales y somáticos de los túbulos están iniciados en una o dos especies. Trabajos comparativos especialmente en el ovino y caprino necesitan ser emprendidos para permitir un completo entendimiento de los mecanismos y funcionamiento de la célula de Sertoli en éstas especies (Sharpe, 1994).

## VIII. BIBLIOGRAFÍA CITADA.

1. Anderson R. A., 2001. Clinical studies: inhibin in the adult male. *Molecular and Cellular Endocrinology*, Vol. 180; 109-116.
2. Andersson A. M. and Skakkebaek N. E., 2001. Serum inhibin B levels during male childhood and puberty. *Molecular and Cellular Endocrinology*, Vol. 180; 103-107.
3. Ando S. et al., 2001. Aromatase expresión in prepuberal Sertoli cells: effect of Thyroid hormone. *Molecular and Cellular Endocrinology*, Vol. 178; 11-21.
4. Bardin C. W. et al., 1994. The Sertoli cell, capítulo 20. *The Physiology of Reproduction*, Vol. 4, segunda edición by Ernest Knobil and Jimmy D. Neill.
5. Bilinska B. et al., 2001. Photoperiodo-dependent capability of androgen aromatización and the role of strogens in the bank vole testis visualized by means of immunohistochemistry. *Molecular and Cellular Endocrinology*, Vol. 178; 189-198.
6. Brodie A. et al., 2001. Aromatase expresión in the human male. *Molecular and Cellular Endocrinology*, Vol. 178; 23-28.
7. Carlsen et al., 1999. Diurnal rhythm in serum levels of inhibin B in normal men: Relation to testicular steroids and gonadotropins. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, Vol. 84; 1664-1669.
8. Carreau S., 2001. Germ cells: a new source of estrogens in the male gonad. *Molecular and Cellular Endocrinology*, Vol. 178; 65-72.
9. Carreau S. et al., 2002. Reproductive system: aromatase and estrogens. *Molecular and Cellular Endocrinology*, Vol. 193, 137-141.
10. Chen Y. J. et al, 2001. Humic acid induced growth retardation in a Sertoli cell line, TM4. *Life Sciences*, Vol. 69; 1269-1284.
11. Cheng C. Y. and Mruk D. D., 2002. Cell junction dynamics in the testis: Sertoli-Germ cell interaction an male contraceptive development. *Physiological Review*, Vol 82; 825-862.
12. Clemente N. et al., 2003. Components of the anti-Müllerian hormone signaling pathway in gonads. *Molecular and Cellular Endocrinology*, Vol. 211; 9-14.
13. Conti M. et al., 1991. Estructure and regulation of gonadal cell phosphodiesterasas. *Molecular Basis of Reproductive Endocrinology* by Peter C.K. Leung.
14. Dadoune J. P. and Alfonsi M. F., 1989. Nuclear changes during spermiogenesis in man and the monkey. *Progress in Clinical and Biological Research*, Vol 296; 171-176. Por Pietro M. Motta.
15. De Alba J., 1985. *Reproducción Animal*. La Prensa Mexicana.
16. De Cesaris P. et al., 1989. Distribution of analogues of spectrina, fodrina and protein 4.1 in rat spermatogenic cells. *Progress in Clinical and Biological Research*, Vol. 296; 149-152. Por Pietro M. Motta.
17. De Revers M. T. H. Et al, 1990. Spermatogenesis in mammals and birds, capítulo 2. Marshall's, *Physiology of Reproduction*, Vol. 2; *Reproduction in the Male*, cuarta edición . Por G. E. Lamming.
18. De Kretser D. M. et al., 2001. Inhibins, activins and follistatin: actions on the testis. *Molecular and Cellular Endocrinology*, Vol. 180; 87-92.



19. De Kretser D. M. and Kerr J. B., 1994. The cytology of the testis, capítulo 19. The Physiology of Reproduction, Segunda edición. Por Ernest Knobil and Jimmy D. Neill.
20. Don J. and Stelzer G., 2002. The expanding family of CREB/CREM transcription factors that are involved with spermatogenesis. *Molecular and Cellular Endocrinology*, Vol. 187; 115-124.
21. Dyce K. M., et al., 1999. *Anatomía Veterinaria*. Segunda edición.
22. Eckardstein S. V. et al., 2001. Inverse correlation between sperm concentration and number of androgen receptor CAG repeats in normal men. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, Vol. 86, No. 6; 2585-2589.
23. Evans H., de la Lahunta A. 1991. *Disección del perro*. Tercera edición.
24. Ferrel C. L., 1991. Nutritional influences on reproduction, capítulo 18. *Reproduction in Domestic Animals*, cuarta edición. Por Perry T. Cupps.
25. Foresta C. et al., 2001. Sertoli cells function in infertile patients with and without microdeletions of the azoospermia factors on the Y chromosome long arm. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, Vol. 86, No. 6; 2414-2419.
26. Frandson R. D. y Spurgeon T. L., 1995. *Anatomía y Fisiología de los Animales Domésticos*, quinta edición.
27. Getty R. 1982. *Anatomía de los Animales Domésticos de Sisson y Grossman*. Quinta edición. Volumen I.
28. Goddard I. et al., 2003. Alteration of lactate production and transport in the adult rat testis exposed in utero to flutamide. *Molecular and Cellular Endocrinology*, Vol. 206; 137-146.
29. Goodman R. L., 1999. Seasonal reproduction, mammals. *Encyclopedia of Reproduction*, Vol. 4. Por Ernest Knobil.
30. Griswold M. D., 1999. Regulation of Sertoli cells. *Encyclopedia of Reproduction*, Vol. 4. Por Ernest Knobil.
31. Griswold M. D. and Russell L. D., 1999. Sertoli cells, function. *Encyclopedia of Reproduction*, Vol. 4. Por Ernest Knobil.
32. Griswold M. D. et al., 2001. Mechanism involved in the homologous down-regulation of transcription of the follicle-stimulating hormone receptor gene in Sertoli cells. *Molecular and Cellular Endocrinology*, Vol. 173; 95-107.
33. Gurates B. et al., 2003. WTI and DAX-1 regulate SF-1- mediated human P450arom gene expresión in gonadal cells. *Molecular and Cellular Endocrinology*, Vol. 208; 61-75.
34. Guyton H., 2001. *Tratado de Fisiología Médica*, décima edición.
35. Hafez E. S. E., 2002. *Anatomía del aparato reproductor del macho*, capítulo 1. *Reproducción e Inseminación Artificial en Animales*, séptima edición.
36. Hamasaki M. and Murakami M., 1989. Transient effect of daily injection of estrogen on spermatogonial mitosis in the rat. *Progress in Clinical and Biological Research*, Vol. 296. Por Pietro M. Motta.
37. Helal M. A. et al., 2002. Ontogeny of human fetal testicular apoptosis during first, second and third trimesters of pregnancy. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, Vol. 87, No. 3; 1189-1193.
38. Hess R. A., 1999. Spermatogenesis, overview. *Encyclopedia of Reproduction*, Vol. 4. Por Ernest Knobil.

39. Honaramooz A. et al., 2002. Sperm from neonatal mammalian testes grafted in mice. *Nature*, Vol. 418, No. 6899; 778-781.
40. Hoshihaya Y. et al., 2003. Müllerian inhibiting substance induces NFkB signaling in breast and prostate cancer cells. *Molecular and Cellular Endocrinology*, Vol. 211; 43-49.
41. Huleihel M. and Lunenfeld E., 2002. Involvement of intratesticular IL-1 system in the regulation of Sertoli cell functions. *Molecular and Cellular Endocrinology*, Vol. 187; 125-132.
42. Jamin S. P. et al., 2003. Genetic studies of the AMH/MIS signaling pathway for Müllerian duct regression. *Molecular and Cellular Endocrinology*, Vol. 211; 15-19.
43. Johnson L., 1991. Spermatogenesis. *Reproduction in Domestic Animals*, cuarta edición. Por Perry T. Cupps.
44. Johnson L. et al., 1999. Testis, overview. *Enciclopedia of Reproduction*, Vol. 4. Por Ernest Knobil.
45. Joss N. et al., 2001. Anti-Müllerian hormone and its receptors. *Molecular and Cellular Endocrinology*, Vol. 179; 25-32.
46. Juneja R. And Koide S.S., 2001. *Biología molecular de la reproducción*, capítulo 24. *Reproducción e Inseminación Artificial en Animales*, séptima edición. Por E. S. Hafez y B. Hafez.
47. Junqueira y Carneiro, 2000. *Aparato reproductor masculino*. *Histología Básica*, Texto y Atlas, quinta edición.
48. Kamitani A. et al., 2002. Distribution of dynamins in testis and their posible relation to spermatogenesis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Vol. 312; 697-701.
49. Keisler D. H., 1999. Sheep and Goats. *Encyclopedia of Reproduction*, Vol 4. Por Ernest Knobil.
50. Ko W. H. et al., 2003. Multiple purinergic receptors lead to intracelular calcium increases in cultured rat Sertoli cells. *Life Sciences*, Vol. 72; 1519-1535.
51. Kubini K. et al., 2000. Basal inhibin B and the testosterone response to human chorionic gonadotropin correlate in prepuberal boys. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, Vol. 85, No. 1; 134-138.
52. Lindsay D. R., 1991. *Reproduction in the sheep and goat*, capítulo 15. *Reproduction in Domestic Animals*, cuarta edición. Por Perry T. Cupps.
53. Longin J. And Battistoni B. M., 2002. Evidence that MMP-2 and TIMP-2 are at play in the FSH- induced changes in Sertoli cells. *Molecular and Cellular Endocrinology*, Vol. 189; 25-35.
54. Luk J. M. et al., 2003. Identification of novel genes expressed during spermatogenesis in stage-synchronized rat testes by differential display. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Vol. 307; 782-790.
55. Maria J. D. et al., 2002. Effects of androgen-binding protein (ABP) on spermatid *Tnp1* gene expression in vitro. *Molecular and Cellular Endocrinology*, Vol. 198; 131-141.
56. Meinhardt A. et al., 2000. Activin maintain the condensed type of mitochondria in germ cells. *Molecular and Cellular Endocrinology*, Vol. 168; 111-117.
57. Meng X. et al., 2001. Transient disruption of spermatogenesis by deregulated expression of neurturin in testis. *Molecular and Cellular Endocrinology*, Vol. 184; 33-39.

58. Murray T. J. et al., 2000. Human fetal testis: second trimester proliferative and steroidogenic capacities. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, Vol. 85; 4812-4817.
59. Nieschlag E. et al., 2003. Use of progestins in male contraception. *Steroids*, Vol. 68; 965-972.
60. Okama T. O. et al., 2002. Germ cell survival through carbohydrate-mediated interaction with Sertoli cells. *Science*, Vol. 295, No. 5552; 124-126.
61. Pace A. J. et al., 2000. Failure of spermatogenesis in mouse lines deficient in the Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-2Cl<sup>-</sup> cotransporter. *The Journal of Clinical Investigation*, Vol. 105, No. 4; 441-119.
62. Parr B. A. and Mc Mahon A. P., 1998. Sexually dimorphic development of the mammalian reproductive tract requires *Wnt-7a*. *Nature*, Vol. 395, No. 6703; 707-709.
63. Payne A. H. et al., 1991. Hormonal regulation and tissue-specific expression of steroidogenic enzymes. *Molecular Basis of Reproductive Endocrinology*. By Peter C. K. Leung.
64. Pelletier G. and Alfy M. E., 2002. Immunocytochemical localization of estrogen receptors  $\alpha$  and  $\beta$  in the human reproductive organs, Vol. 85, No.12; 4835-4839.
65. Petersen C. and Boitani C., 2001. Transforming growth factor- $\alpha$  stimulates proliferation of rat Sertoli cell. *Molecular and Cellular Endocrinology*, Vol. 181; 221-226.
66. Petersen C. et al., 2002. Interleukin-1 is a potent growth factor for immature rat Sertoli cells. *Molecular and Cellular Endocrinology*, Vol. 186; 37-47.
67. Plöen L., 1989. Aspects of the dynamics and ultrastructure of mammalian spermatogenesis. *Progress in Clinical and Biological Research*, Vol. 296; 141-148.
68. Quian C. A. S. et al., 1999. Androgen receptor distribution in adult human testis. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, Vol. 84; 350-358.
69. Rajpert E. M. et al., 1999. Expression Anti-Müllerian hormone during normal and pathological gonadal development: association with differentiation of Sertoli an Granulosa cells. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, Vol. 84; 3836-3843.
70. Ramaswamy S. and Plant T. M., 2001. Operation of the follicle-stimulating hormone (FSH)-inhibin B feedback loop in the control of primate spermatogenesis. *Molecular and Cellular Endocrinology*, Vol. 180; 93-101.
71. Regadera J. et al., 2001. Androgen receptor expression in Sertoli cells as a function of seminiferous tubule maturation in the human cryptorchid testis. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, Vol 86; 413-420.
72. Rey R. et al., 2003. AMH/MIS: what we know already about the gene, the protein and its regulation. *Molecular and Cellular Endocrinology*, Vol. 211; 21-31.
73. Riera M. F. Et al., 2001. Regulation of lactate production by FSH, IL1 $\beta$ , and TNF $\alpha$  in rat Sertoli cells. *General and Comparative Endocrinology*, Vol. 122; 88-97.
74. Ross A. J. et al., 2003. AMH induces mesonephric cell migration in XX gonads. *Molecular and Cellular Endocrinology*, Vol. 211; 1-7.
75. Rosatto M. et al., 2001. Extracellular ATP stimulates estradiol secretion in rat Sertoli cells in vitro: modulation by external sodium. *Molecular and Cellular Endocrinology*, Vol. 178; 181-187.

76. Russell L. D., 1999. Sertoli cells, overview. *Encyclopedia of Reproduction*, Vol 4. Por Ernest Knobil.
77. Sanfilippo S. and Imbesi R. M., 1989. Is the spermatogonium an androgen target cell? An histochemical, immunocytochemical and ultrastructural study in the rat. *Progress in Clinical and Biological Research*, Vol. 296; 177-185. Por Pietro M Motta.
78. Santemma V. et al., 1989. Sertoli cell culture with a double chamber system. *Progress in Clinical and Biological Research*, Vol. 296; 153-158. By Pietro M. Motta.
79. Setchell B. P., 1999. Male reproductive organs and semen. *Reproduction in Domestic Animals*, cuarta edición. Por Perry T. Cupps.
80. Setchell B. P. et al., 1994. Anatomy, vasculature, innervation and fluids of the male reproductive tract, capitulo 18. *The Physiology of Reproduction*, Vol. 1, segunda edición. Por Ernest Knobil and Jimmy D. Neill.
81. Sharpe R. M., 1994. Regulation of spermatogenesis. *The Physiology of Reproduction*, Vol. 1, segunda edición. Por Ernest Knobil and Jimmy D. Neill.
82. Singh A. and Ezeasor D., 1989. Ultrastructure of Sertoli cells in scrotal testis of unilaterally cryptorchid goat. *Progress in Clinical and Biological Research*, Vol. 296; 159-164. Por Pietro M. Motta.
83. Steinberger A., 1991. Effects of temperature on the biochemistry of the testis. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, Vol. 286. Por Adrian W. Zorngniotti.
84. Syed V. and Hecht N. B., 2002. Disruption of germ cell-Sertoli cell interactions leads to spermatogenic defects. *Molecular and Cellular Endocrinology*, Vol. 186; 155-157.
85. Tabuchi Y. and Kondo T., 2003. cDNA microarray analysis reveals chop-10 plays a key role in Sertoli cell injury induced by bisphenol A. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Vol. 305; 54-61.
86. Tada T et al., 2002. Differential expression and cellular localization of activina and inhibina mRNA in the rainbow trout ovary and testis. *General and Comparative Endocrinology*, Vol. 125; 142-149.
87. Thompson E. F. et al., 2003. Inhibition of steroidogenesis in Leydig cells by Müllerian-inhibiting substance. *Molecular and Cellular Endocrinology*, Vol. 211, 99-104.
88. Toyama Y. et al., 2001.  $\beta$ -estradiol 3-benzoate affects spermatogenesis in the adult mouse. *Molecular and Cellular Endocrinology*, Vol. 178; 161-168.
89. Turner K. U. et al., 2001. Modulation of gene expression by androgen and oestrogens in the testis and prostate of the adult rat following androgen withdrawal. *Molecular and Cellular Endocrinology*, Vol. 178; 73-87.
90. Vihko K. K., 1991. Regulation of LH and FSH receptor gene expression in the ovary and testis. *Molecular Basis of Reproductive Endocrinology*. Por Peter C. K. Leung.
91. Visser J. A., 2003. AMH signaling: from receptor to target gene. *Molecular and Cellular Endocrinology*, Vol. 211; 65-73.
92. Volpato K. C. et al., 2004. Involvement of  $K^+$  channels and calcium-dependent pathways in the action of  $T_3$  on amino acid accumulation and membrane potential in Sertoli cells of immature rat testis. *Life Sciences*, Vol 74; 1277-1288.

93. Wahlgren A. W. et al., 2003. EGF stimulates rat spermatogonial DNA synthesis in seminiferous tubule segment in vitro. *Molecular and Cellular Endocrinology*, Vol. 201; 39-46.
94. Waites G. M. H. and Setchell B. P., 1990. Physiology of the mammalian testis. Marshall's, *Physiology of Reproduction*, Vol 2. Reproduction in the male, cuarta edición. Por G. E. Lamming.
95. Werner G. and Bawa S. R., 1989. Nuclear cytoplasmic exchange during spermatogenesis. *Progress in Clinical and Biological Research*, Vol. 296; 171-176. Por Pietro M. Motta.
96. Wheater P. R., 1987. *Histologia Funcional, Texto y Atlas*, segunda edición.
97. Wrobel K. H., 1998. Male reproductive system. *Textbook of Veterinary Histology*. Por H. Dieter Dellman and Joann Eurell.
98. Xavier F. and Allard S., 2003. Anti-Müllerian hormone,  $\beta$ -catenin and Müllerian duct regression. *Molecular and Cellular Endocrinology*, Vol. 211; 115-121.
99. Xing W. et al., 2003. Role of follitropin receptor signaling in nuclear protein transitions and cromatin condensation during spermatogenesis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Vol, 312; 697-701.
100. Xing W. and Sairam M. R., 2002. Cross talk of the kruppel transcription factors regulates expression of the ovine FSH receptor gen. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Vol. 295; 1096-1101.
101. Yan W. et al., 2000. Stem cell factor functions as a survival factor for mature Leydig cells and a growth factor for precursor Leydig cells after athylene dimethane sulfonate treatment. *Developmental Biology*, Vol. 227; 169-182.
102. Yan W. and Suominen J., 2000. Involvement of Bcl-2 family proteins in germ cell apoptosis during testicular development in the rat and pro-survival effect of stem cell factor on germ cells in vitro. *Molecular and Cellular Endocrinology*, Vol. 165; 115-127.
103. Young J. et al., 1999. Antimüllerian hormone in patients with hypogonadotropic hypogonadism. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, Vol 84; 2696-2699.
104. Young J. et al., 2003. Hypogonadotropic hypogonadism as a model of post-natal testicular anti-Müllerian hormone secretion in humans. *Molecular and Cellular Endocrinology*, Vol. 211; 51-54.