

RECEPTORS D'IGF-1 I MARCADORS FUNCIONALS DE LES CÈL·LULES DE SERTOLI

LLUÍS BASSAS¹ I MARTA ANTICH²

¹ *Servei d'Andrologia, Fundació Puigvert.*

² *Fertilab.*

Adreça per a la correspondència: Lluís Bassas. Servei d'Andrologia, Fundació Puigvert. Cartagena, 340. 08025 Barcelona. Adreça electrònica: lbassas@fundacio-puigvert.es.

RESUM

Les cèl·lules de Sertoli (CS) participen en el desenvolupament del testicle fetal i en el manteniment físic i metabòlic de l'espermatogènesi a partir de la pubertat. Les CS fetals maduren a CS adultes i s'han descrit diversos marcadors que són útils per identificar-ne l'estat maduratiu. La diferenciació de les CS està regulada per la FSH, els andrògens, les hormones tiroïdals i diversos pèptids reguladors i de creixement. El factor de creixement insulínic de tipus 1 (IGF-1) afavoreix la proliferació de les CS immadures i contribueix a la diferenciació envers un fenotip adult. Les lesions testiculars induïdes per criptorquídia experimental en rata desencadenen una forta regulació positiva dels receptors d'IGF-1 en les CS a partir de la pubertat, mentre que en testicles normals s'expressen poc. En homes adults, els receptors d'IGF-1 també mostren sobreexpressió en testicles criptorquídics, i en altres lesions testiculars d'origen divers. El nombre de receptors a les CS es correlaciona amb el nombre d'espermatogònies i d'espermàtides madures ($r = -0,515$, $p < 0,001$). En contrast, els testicles amb bloqueig maduratiu tenen nivells similars als normals. Proposem que els receptors d'IGF-1 podrien ser considerats marcadors de maduració de les CS, sensibles a alteracions tubulars parcials amb pèrdua de l'epiteli germinal i fenòmens inicials de desdiferenciació.

Paraules clau: testicle, cèl·lula de Sertoli, receptors IGF-I, espermatogènesi, infertilitat masculina.

SUMMARY

Sertoli cells (SC) participate in the development of the fetal testis and —after puberty— in the physical and metabolic support of spermatogenesis. Fetal SC mature into adult SC, and a number of biological markers have been described to identify their maturation status. Differentiation of SC is regulated by FSH, androgens, thyroid hormones, and different regulatory and growth peptides. Insulin like growth factor 1 (IGF-1) promotes the proliferation of immature

SC and contributes to their differentiation to an adult phenotype. Testicular damage induced by experimental cryptorchidism in rat triggers a strong positive regulation of IGF-1 receptors in the SC after puberty, while in normal testes IGF-1 receptors remain low. In adult men, IGF-1 receptors also show up-regulation in cryptorchid testes, as well as in other testicular injuries of diverse origin. The number of IGF-1 receptors in SC is correlated with the number of spermatogoniae and elongated spermatids ($r = -0,515, p < 0.001$). In contrast, testes with maturation arrest display IGF-1 receptor levels similar to normal testes. We propose that IGF-1 receptors could be considered as maturation markers of the SC, sensitive enough to detect partial tubular derangements, showing loss of germinal epithelium and minor de-differentiation.

Keywords: testicle, Sertoli cell, IGF-1 receptor, spermatogenesis, masculine infecundity.

INTRODUCCIÓ

L'inici i el manteniment de la producció normal de les cèl·lules reproductores masculines està regulada principalment per les gonadotrofines i els andrògens. L'acció primària d'aquestes hormones està dirigida a les cèl·lules somàtiques del testicle. Però la maduració de les cèl·lules germinals està controlada també per moltes altres substàncies reguladores produïdes per les cèl·lules de Sertoli, cèl·lules de Leydig i d'altres, que conformen la unitat tubulointerstitial, i que participen en un constant diàleg bioquímic amb les cèl·lules germinals en formació (Skinner, 1991; Spiteri-Grech i Nieschlag, 1993; de Kretser *et al.*, 1998).

Les cèl·lules de Sertoli tenen un paper essencial en el desenvolupament estructural del testicle durant l'etapa fetal. Posteriorment, i a partir de la pubertat, la principal funció de les cèl·lules de Sertoli serà el manteniment físic i metabòlic de les diferents fases de l'espermatoïgenesis (Sharpe, 1994). Aquestes accions clarament separades per la seva finalitat i pel temps se sustenten gràcies al fet que les cèl·lules de Sertoli fetals tenen propietats morfològiques i funcionals diferents de les adultes. El procés de maduració o «diferenciació», que té lloc abans de la pubertat en l'home, està induït i regulat per hormones i per diversos factors i substàncies que considerem a continuació (Sharpe *et al.*, 2003). La comprensió dels mecanismes implicats en la maduració funcional de les cèl·lules de Sertoli és impor-

tant perquè pot illuminar les causes —o almenys les conseqüències— de les alteracions testiculars que podem observar en la clínica i en l'experimentació animal.

CÈL·LULES DE SERTOLI FETALS I ADULTES

Durant l'última part de la vida fetal i els primers mesos després del naixement, les cèl·lules de Sertoli proliferen activament en l'home (Cortés *et al.*, 1987) i d'altres mamífers, i determinen en bona part el nombre que es trobarà en arribar a l'etapa adulta. Cada cèl·lula de Sertoli té la capacitat de sustentar el desenvolupament d'un nombre màxim de cèl·lules germinals. Per tant, la població de cèl·lules de Sertoli determinarà la quantitat de cèl·lules germinals que produirà el testicle. A més a més de la capacitat proliferativa, les cèl·lules de Sertoli immadures tenen altres característiques funcionals específiques (vegeu la taula 1). La producció d'hormona antimülleriana (AMH) assegura la regressió dels conductes de Müller fetals, i l'activitat aromatasa (P450) podria estar relacionada amb accions dels estrògens en el testicle immadur. Altres productes, com la citoqueratina 18 o l'antigen M2A, tenen un paper poc conegut, però, en tot cas, constitueixen marcadors útils de les cèl·lules de Sertoli immadures (Steger *et al.*, 1996; Franke *et al.*, 2004).

La proliferació de les cèl·lules de Sertoli im-

madures està controlada per les gonadotrofines (especialment FSH) i per factors de creixement que actuen localment (Gnessi *et al.*, 1997). L'hipotiroidisme també està associat a macroòrquia per augment del nombre i el volum de les cèl·lules de Sertoli (Jannini *et al.*, 1995).

Al començament de la pubertat les cèl·lules de Sertoli experimenten canvis morfològics i funcionals que marcaran la transformació a l'estat adult o madur. Perden la capacitat proliferativa, el nucli es fa més gran i multilobulat i el nuclèol és més evident. El volum del citoplasma augmenta i perd la morfologia columnar, i les cèl·lules adjacents formen unions intercel·lulars fortes, que determinen la creació de compartiments separats, necessaris per a la regulació de les diferents fases de l'espermatogènesi. La creació d'una barrera física afavoreix la formació de la llum tubular on s'aboquen els fluids secretats (vegeu la taula 1). Les cèl·lules germinals queden aleshores sotmeses a les condicions metabòliques d'aquests compartiments, segellats de la resta del medi, i comencen la proliferació i diferenciació de les cèl·lules reproductores.

REGULACIÓ DE LA MADURACIÓ FUNCIONAL DE LES CÈL·LULES DE SERTOLI

En condicions normals, la maduració de les cèl·lules de Sertoli sembla produir-se per l'acció combinada dels andrògens i la FSH (Tan *et al.*, 2005; Allan *et al.*, 2004) i per l'augment de receptors d'andrògens en les cèl·lules de Sertoli (Regadera *et al.*, 2001). És possible que les hormones tiroïdals (i en particular la T_3) contribueixin a potenciar els efectes dels andrògens augmentant l'expressió de receptors d'andrògens (Arambepola *et al.*, 1998). També s'ha proposat que la influència de les cèl·lules germinals que han començat a diferenciar-se pot contribuir a la maduració de les cèl·lules de Sertoli. De fet, diverses alteracions experi-

mentals i clíniques en què s'observa pèrdua parcial o total de les cèl·lules germinals s'acompanyen de canvis en les propietats secretores de les cèl·lules de Sertoli i de fenòmens compatibles amb una regressió o desdiferenciació morfològica o biològica (Guitton *et al.*, 2000). Es planteja aleshores la qüestió si els fenòmens d'aparent regressió Sertoliana representen una conseqüència de les alteracions que sofreixen les cèl·lules germinals o, ben al contrari, són els defectes que presenten les cèl·lules de Sertoli els responsables de la pèrdua o degeneració de l'epiteli germinal.

Gairebé una vintena de factors de creixement i pèptids tenen efectes sobre les cèl·lules de Sertoli i altres tipus cel·lulars del testicle (vegeu Gnessi *et al.*, 1997, per a una revisió exhaustiva). En molts casos són produïts localment, i actuen sobre receptors específics situats en les mateixes cèl·lules productores o les seves veïnes (Hoeben *et al.*, 1994). En particular, ens han interessat el factor de creixement insulínic de tipus 1 (IGF-1).

EL SISTEMA IGF-1

El factor de creixement insulínic de tipus 1 (*Insulin-like growth factor 1* o IGF-1) és un clar candidat a participar en la regulació local de l'espermatogènesi dels mamífers (Spiteri-Grech i Nieschlag, 1992). El testicle disposa de tots els elements que formen el sistema IGF: pèptids, receptors i proteïnes d'unió. Els estudis immunohistoquímics realitzats en homes i en diversos models animals amb espermatogènesi normal evidencien que l'IGF-1 es troba preferentment a les cèl·lules de Sertoli, però també als espermatòcits primaris. D'altra banda, els receptors d'IGF-1 estan presents als espermatòcits secundaris i espermatides rodones i, en menor quantitat, a les cèl·lules de Sertoli i algunes cèl·lules de Leydig (Vannelli *et al.*, 1988; Forti *et al.*, 1989). S'ha constatat l'expressió de mRNA corresponent als receptors d'IGF-1 per mitjà d'hibridació *in situ* en

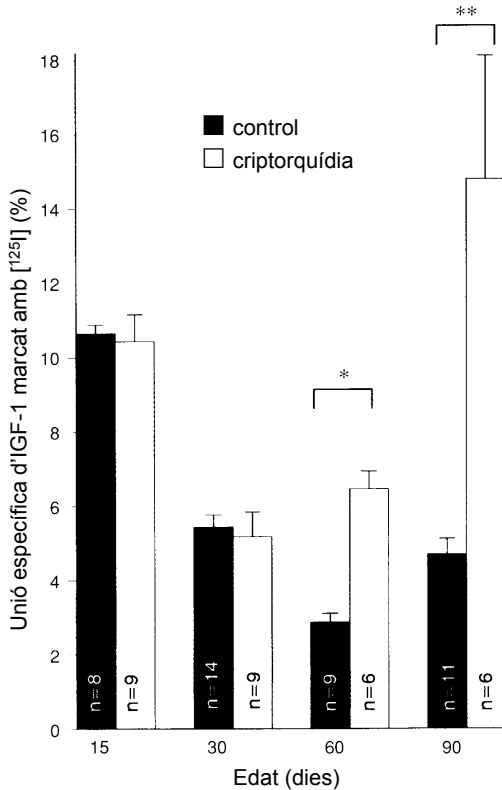


FIGURA 1. Efecte de l'edat i la criptorquídia en els receptors d'IGF-1 al testicle de rata Wistar. Els valors representen les mitjanes \pm DS de la unió específica d'IGF-1 marcat amb $[^{125}\text{I}]$ en preparacions crues de membranes (1 mg/ml de proteïna) de testicles (n) en un mateix experiment i per triplicat. Les diferències entre testicles criptorquídics i control són significatives als seixanta dies ($*p < 0,01$) i als noranta dies ($**p < 0,005$). La criptorquídia unilateral es va induir practicant una secció distal del gubernacle el dia 4. En condicions normals els animals inicien el descens testicular i la pubertat poc després dels quinze dies de vida, i completen el desenvolupament cap als trenta-cinc dies. Els animals de noranta dies ja són adults. A aquesta edat els testicles criptorquídics eren un 60% més petits que els òrgans escrotals control, i la histologia confirmava la marcada disminució del diàmetre tubular i l'absència pràcticament total de l'epiteli germinal.

cèl·lules de Sertoli i espermatòcits de testicle humà. També hi ha mRNA de diferents proteïnes d'unió a les cèl·lules de Sertoli, i cèl·lules de Leydig, en cèl·lules peritubulars i a l'endoteli dels vasos sanguinis testiculars (Zhou i Bondy, 1993).

L'IGF-1 exerceix accions biològiques re-

lacionades amb el metabolisme, creixement i diferenciació sobre les cèl·lules de Sertoli, i també sobre les cèl·lules de Leydig (Moore i Morris, 1993) i les germinals (Tajima *et al.*, 1995). Per acció de l'IGF-1, les cèl·lules de Sertoli desenvolupen unions intercel·lulars abundants i incrementen la densitat del reticle endoplasmàtic llis (Pretzer *et al.*, 1994). S'ha suggerit que el dèficit d'IGF-1 que s'observa en certes malalties sistèmiques podria alterar la permeabilitat de la barrera hematotesticular (Castilla-Cortázar *et al.*, 2004). La producció de lactat (principal metabòlit energètic de les cèl·lules germinals) i el transport de glucosa són estimulats per l'IGF-1 (Oonk *et al.*, 1989), i també la secreció d'ABP i transferrina per les cèl·lules de Sertoli (Perez-Infante *et al.*, 1986). És probable que l'efecte promotor de la divisió de les espermatogònies que mostra l'IGF-1 s'exerceixi a través de les cèl·lules de Sertoli (Söder *et al.*, 1992; Nakayama *et al.*, 1999). En la mateixa direcció, s'ha demostrat un efecte antiapoptòtic de l'IGF-1 sobre la línia germinal en situacions de lesió testicular induïda *in vivo* (Ozkurkcugil *et al.*, 2004).

Considerades en perspectiva, les accions de l'IGF-1 sobre les cèl·lules de Sertoli afavoreixen el manteniment i proliferació de les cèl·lules de Sertoli immadures i, a partir de la pubertat, contribueixen a la diferenciació envers un fenotip adult capaç de sustentar l'espermatogènesi. Les concentracions d'IGF-1 i del respectiu receptor són elevades en testicle de rata prepuberal, i disminueixen quan es produeix el desenvolupament gonadal i la maduració sexual (Oonk i Grootoed, 1988; Hanson *et al.*, 1989). En aquest sentit, els receptors d'IGF-1 poden considerar-se com un marcador no clàssic de l'estat de maduració sertoliana

LESIONS TESTICULARS I RECEPTORS D'IGF-1 A LES CÈL·LULES DE SERTOLI

Alguns estudis *in vivo* realitzats en rates in-

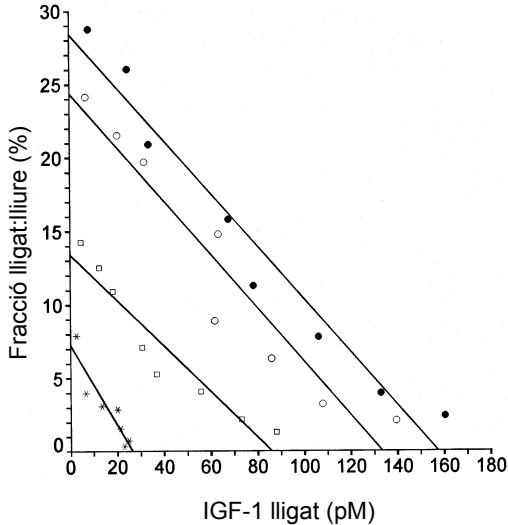


FIGURA 2. Representació Scatchard de la unió d'IGF-1 marcat amb $[^{125}\text{I}]$ en preparacions de membranes de teixit testicular humana amb espermatogènesi normal (*), hipospermatogènesi (□), hipogonadisme induït per antagonistes de GnRH (○) i criptorquídia (●). La unió específica s'expressa com a fracció d'IGF-1 lligat:lliure (en percentatge) i representat gràficament enfront de la capacitat total d'unió. Cada punt és la mitjana de duplicats en dos experiments. El pendent va ser semblant en totes les mostres, i els coeficients de correlació de cada línia de regressió va ser $> 0,95$ en tots els casos. La concentració d'IGF-1 no marcat capaç de competir pel 50% de la unió de $[^{125}\text{I}]\text{IGF-1}$ (CI_{50}) va ser 5 ng/ml. La insulina té una afinitat mil vegades menor, mentre que un anticòs monoclonal antireceptor d'IGF-1 ($\alpha\text{IR-3}$) mostra una IC_{50} de 40 ng/ml, i a concentracions de 15 $\mu\text{g/ml}$ va desplaçar completament l'IGF-1 dels llocs d'unió.

diquen que el pèptid IGF-1 augmenta en el testicle quan s'indueixen lesions experimentals del túbul seminífer i bloqueig de l'espermatogènesi (Bartlet *et al.*, 1990; Spiteri-Grech *et al.*, 1991). Nosaltres vàrem estudiar la regulació dels receptors d'IGF-1 en el testicle de rata en una situació particular de lesió testicular *in vivo*: la criptorquídia. Es va utilitzar un model experimental *in vivo* perquè així es mantenien les condicions originals de la unitat tubulointerstitial, i s'evitaven possibles interferències derivades del cultiu *in vitro* de poblacions cel·lulars aïllades. La criptorquídia és una alteració congènita que en la clínica es presenta freqüentment, i que cons-

titueix un factor causal d'infertilitat masculina ben reconegut. La secció microquirúrgica distal del gubernacle de la rata just després del naixement ocasiona criptorquídia unilateral quan l'animal es desenvolupa, i és un model reproducible —per bé que imperfecte— de lesió testicular primària (Bergh i Helder, 1978). En testicles normals, la tinció immunohistoquímica per mitjà d'un anticòs monoclonal antireceptor d'IGF-1 ($\alpha\text{IR-3}$) va confirmar la presència d'immunoreactivitat moderada en espermatòcits primaris, i de més dèbil en espermatogònies i cèl·lules de Sertoli. Les espermàtides madures i els espermatozoides no mostraren receptors IGF-1. A l'interstici, la majoria de cèl·lules de Leydig eren clarament positives, mentre que les cèl·lules peritubulars i les cèl·lules endotelials dels vasos eren negatives (Antich *et al.*, 1995a).

En els testicles criptorquídics, el canvi més important en comparació amb els testicles contralaterals (escrotals) va ser un increment marcat de receptors IGF-1 immunoreactius de les cèl·lules de Sertoli, però no es detectaren canvis en el nivell d'immunoreactivitat a les cèl·lules de l'interstici. Per tal de quantificar amb més detall l'expressió de receptors IGF-1 funcionals, es prepararen membranes procedents de testicles normals i criptorquídics en diferents moments del desenvolupament testicular. Els experiments d'unió competitiva amb IGF-1 marcat amb radioiode 125 i diversos anàlegs (IGF-1 fred, insulina, anticòs antireceptor IGF-1 $\alpha\text{IR-3}$) mostraren la presència de llocs d'unió per a IGF-1 amb les característiques d'especificitat i afinitat corresponents a receptors específics d'IGF-1. L'anàlisi gràfica de Scatchard mostrà que els canvis d'unió específica eren deguts a canvis de la capacitat total d'unió per mg de teixit testicular i no a modificacions en l'afinitat dels llocs d'unió. El seguiment longitudinal indicava que els receptors d'IGF-1 disminuïen en els testicles normals durant el desenvolupament, amb valors mínims a partir dels seixanta dies després del naixement (animal adult), que eren un 40-

50% dels assolits el dia 15 (abans de l'inici de la pubertat). En els testicles criptorquídics, el nombre de receptors d'IGF-1 va disminuir inicialment, en paral·lel al que s'observà en testicles normals (dies 15 i 30). Però el dies 60 i 90 es va incrementar de nou, amb diferències significatives en relació amb els testicles control (vegeu la figura 1). De fet, la unió específica d'IGF-1 el dia 90 va superar la que mostraven els testicles immadurs (dia 15). Els estudis autoradiogràfics realitzats en seccions testiculars indicaren que l'augment de la unió específica per a IGF-1 corresponia a l'àrea ocupada per les cèl·lules de Sertoli. Cal destacar que els canvis descrits varen afectar únicament el testicle, ja que l'expressió de receptors a l'epidídim de rata (abundants a l'extrem apical de les cèl·lules principals) no es va modificar en les gònades criptorquídiques en comparació amb les normals (Antich *et al.*, 1995a).

És possible que el patró de regulació positiva dels receptors IGF-1 en una situació de lesió induïda experimentalment formi part d'una resposta adaptativa desencadenada per les alteracions patològiques dels túbuls seminífers produïdes per la criptorquídia. Per tal de verificar si aquests canvis es reproduïen en l'home, vàrem investigar l'expressió dels receptors d'IGF-1 en espècimens de testicles obtinguts de pacients amb criptorquídia espontània congènita, i també procedents d'homes amb espermatogènesi normal i de pacients infèrtils que presentaven alteracions testiculars idiopàtiques de causa diversa.

Utilitzant una metodologia similar (experiments d'unió competitiva amb [¹²⁵I]-IGF-1, autoradiografia de seccions criostàtiques i immunohistoquímica) s'observà que l'IGF-1 es lligava específicament a les membranes obtingudes de preparacions testiculars totals, i que les característiques dels llocs d'unió corresponien a receptors específics d'IGF-1. Per mitjà de mètodes indirectes, es descartà que les preparacions continguessin quantitats significatives de proteïnes d'unió.

L'expressió de receptors IGF-1 va ser més

alta en membranes testiculars de pacients amb alteracions tubulars que en els que tenien espermatogènesi normal, i la capacitat total d'unió (R_0) va augmentar proporcionalment a la gravetat de les lesions tubulars. Les diferències varen ser significatives ($p < 0,005$) en els grups d'hipoespermatogènesi i aplàsia germinal (només cèl·lules de Sertoli). Els testicles criptorquídics i els corresponents a individus tractats amb antagonistes de GnRH mostraren la major densitat de receptors IGF-1, però el baix nombre de casos no va permetre l'anàlisi estadística. En contrast, els testicles que presentaven parada madurativa completa tenien uns nivells d'unió similar als normals (vegeu la figura 2). El nombre de receptors testiculars es va correlacionar significativament amb el nombre d'espermatogònies per túbul ($r = -0,515$) i la mitjana d'espermàtides madures ($r = -0,515$). La puntuació de Jonhsen també es va correlacionar negativament amb la densitat de receptors IGF-1 de testicle.

Per mitjà d'autoradiografies es localitzaren receptors d'IGF-1 en els túbuls seminífers de seccions testiculars amb espermatogènesi normal amb una densitat de $29,7 \pm 5$ (mitjana \pm DS) de grans de plata per $100 \mu\text{m}^2$. Les zones de l'interstici ocupades per grups de cèl·lules de Leydig mostraren un menor senyal de receptors IGF-1 ($17,8 \pm 1,8$ grans/ $100 \mu\text{m}^2$). Les seccions corresponents a bloqueig maduratiu a nivell d'espermàtòcit primari tingueren una distribució i quantitat de receptors semblant a les normals. La unió inespecífica va ser uniforme en tots els casos ($9,9 \pm 1,5$ grans/ $100 \mu\text{m}^2$). En canvi, a les seccions amb només cèl·lules de Sertoli es detectà augment d'unió d'IGF-1 en l'àrea corresponent a les cèl·lules de Sertoli ($50,8 \pm 12,5$ grans/ $100 \mu\text{m}^2$), mentre que a l'espai intersticial els nivells varen ser de $16,9 \pm 8,1$ grans/ $100 \mu\text{m}^2$, igual que en testicles normals (vegeu la figura 3).

Les tincions immunohistoquímiques amb anticòs antireceptor IGF-1 varen confirmar la ubicació dels receptors en els túbuls seminífers: membranes i citoplasma de cèl·lules de

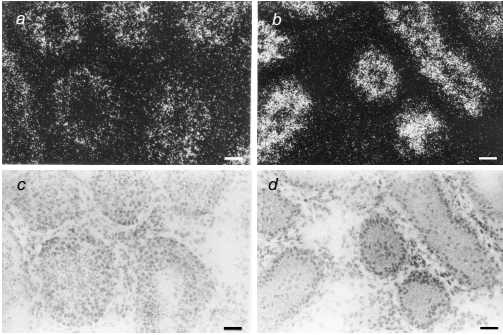


FIGURA 3. Autoradiografies generades amb [125 I]IGF-1 unit a seccions criostàtiques de testicle amb espermatogènesi normal (a, c) i aplàsia germinal (b, d). Les imatges superiors, en camp fosc, corresponen a les mateixes àrees que les imatges en camp clar, a la part inferior. En el testicle normal l'IGF-1 es va unir predominantment a la paret del túbul seminífer. Algunes àrees ocupades per grups de cèl·lules de Leydig mostren un senyal dèbil (a). Els túbuls amb aplàsia germinal, compostos exclusivament per cèl·lules de Sertoli (b), presenten un senyal fort d'unió, mentre que les zones de l'interstici tenen una densitat de traçador similar a la del testicle normal. Les barres horitzontals representen 50 μ m. Es varen incubar seccions criostàtiques (10 μ m) muntades en portaobjectes de vidre amb [125 I]IGF-1 en presència o absència de mateix lligand no marcat. Després de la incubació, rentat i fixació, els portaobjectes es cobriren amb emulsió fotogràfica (NTB-2) i es varen revelar després de deu dies d'exposició, i posteriorment es varen tnyir amb hematoxilina-eosina. Totes les seccions es processaren en un mateix experiment, i les condicions d'exposició i revelatge varen ser idèntiques. Les autoradiografies corresponents a la unió inespecífica (que no es mostren aquí) es varen obtenir incubant 250 ng/ml d'IGF-1 no marcat, i mostraren un patró uniforme, amb una densitat de grans similar al nivell de fons.

Sertoli, algunes espermatogònies, espermatòcits primaris i espermàtides rodones. Els espermatozoides madurs i les cèl·lules peritubulars varen ser negatius. Algunes cèl·lules de Leydig presentaven immunoreactivitat forta, però d'altres tenien una tinció dèbil.

En comparació amb els testicles normals, no es veieren diferències dels receptors IGF-1 en les seccions amb bloqueig a l'espermatoïcit. Les seccions amb un patró histològic d'aplàsia germinal i les corresponents a pacients tractats amb anàlegs de GnRH mostraren una forta tinció de l'anticòs antireceptor IGF-1 a tota la superfície de les cèl·lules de Sertoli. Les cèl·lules germinals presents en els túbuls pa-

tològics també expressaren alts nivells d'immunoreactivitat. En contrast, les cèl·lules de Leydig d'aquests espècimens varen mantenir nivells de receptors IGF-1 immunoreactius semblants als dels òrgans normals.

MADURACIÓ DEFICIENT O INVOLUCIÓ DE LES CÈL·LULES DE SERTOLI

Per identificar quan l'estat maduratiu de les cèl·lules de Sertoli significa una reacció adaptativa enfront d'anomalies intrínseques de les cèl·lules germinals, i quan és el resultat d'un defecte somàtic que s'instaura ja en l'etapa fetal de la vida, resulta especialment important disposar de marcadors biològics. Els nostres resultats confirmen i amplien les dades d'altres autors, en el sentit que els receptors d'IGF-1 presents a les cèl·lules de Sertoli experimenten una regulació positiva en presència de disfuncions testiculars (del túbuls seminífers) de causes diverses i en diferents espècies. Aquesta sobreexpressió podria ser considerada un signe —un marcador no clàssic— d'una certa involució sertoliana. Independentment del mecanisme causal, el nombre de receptors és directament proporcional al grau de deteriorament de l'epiteli germinal i del fracàs de l'espermatogènesi. El fet que no hi hagi augment dels receptors IGF-1 quan la quantitat d'espermatogònies i espermatòcits primaris és normal (com en el cas del bloqueig maduratiu) indicaria que la presència de certs tipus específics de cèl·lules germinals és important per mantenir —a través d'una intercomunicació local amb les cèl·lules de Sertoli— el seu estat de diferenciació funcional adulta. És possible que d'altres factors de creixement i regulació experimentin formes de regulació similars. Per exemple, els receptors del factor de creixement epidèrmic (EGF) augmenten en testicles d'homes amb lesió tubular destructiva (Foresta i Varotto, 1994; Antich *et al.*, 1995b), i la depleció de cèl·lules germinals

TAULA 1. Característiques morfològiques i funcionals de les cèl·lules de Sertoli (CS) fetals i adultes en condicions normals

	CS fetals (immadures)	CS adultes (madures)
Morfologia	Nucli petit, únic Nuclèol poc evident Poques unions intercel·lulars Citoplasma escàs, allargat Sense de llum tubular	Nucli gran, multilobulat Nuclèol desenvolupat Abundants unions intercel·lulars Citoplasma abundant, irregular Formació de llum tubular
Capacitat de proliferació	present	absent
Hormona antimülleriana	present	absent
Receptor d'andrògens	absent	present (variable segons el cicle espermatogènic)
Glicoproteïna sulfat 2 (SGP-2)	absent	present
Aromatasa (P450)	present	absent
Citoqueratina 18	present	dèbil
GATA-1	absent	present
p27 ^{Kip1}	absent	present
Antigen M2A	present	absent

per diferents tècniques provoca canvis secundaris en les cèl·lules de Sertoli que recorden les cèl·lules immadures (Boujard *et al.*, 1995). Així i tot, en alguns casos —com la resistència als andrògens o a les hormones tiroïdals, o l'hipogonadisme hipogonadotròfic— resulta evident que les cèl·lules de Sertoli es mantenen en un estat indiferenciat primari, que les fa incompetents per donar suport a la producció espermàtica (Raipjert-de Meyts *et al.*, 1999; Jannini *et al.*, 2000; Joung *et al.*, 1999). De totes maneres, en la privació postpuberal d'andrògens s'observa una reparació parcial de marcadors propis d'immaduresa en les cèl·lules de Sertoli, que és reversible amb el tractament substitutiu apropiat (Young *et al.*, 1999). En el cas de la criptorquídia, la interpretació resulta més difícil, perquè la ubicació ectòpica del testicle podria lesionar directament les cèl·lules de Sertoli, i impedir-ne la maduració. Alternativament però, la pèrdua progressiva de la línia germinal, sensible a les condicions en què es troba el testicle criptorquídic, pot iniciar els fenòmens reactius de desdiferenciació secundària descrits anteriorment.

Els marcadors de maduració sertoliana es-

mentats abans poden ajudar a definir nivells diferents de desdiferenciació en diverses malalties. L'antigen M2A només persisteix quan, per manca d'acció androgènica o disgenèsia greu, les cèl·lules de Sertoli resten en un estat indiferenciat fetal (Steger *et al.*, 1999; Skakkebaek *et al.*, 2001). També, l'expressió de CK18 i d'AMH està augmentada en magnitud variable (però menor que en cèl·lules fetals) en lesions d'atròfia mixta, aplàsia germinal i lesions produïdes per la criptorquídia (Maymon *et al.*, 2000; Maymon *et al.*, 2002). Els receptors d'alguns factors de creixement com l'IGF-1 podrien ser considerats marcadors més sensibles, perquè serien els primers a mostrar augment d'expressió, fins i tot quan es produeixen alteracions tubulars parcials on les cèl·lules de Sertoli presenten un mínim grau de desdiferenciació.

El coneixement de les cèl·lules de Sertoli immadures quan persisteixen en el testicle d'individus adults és important per entendre com es produeixen els errors del desenvolupament que desemboquen en el fracàs funcional del testicle. Tot i que no poden donar suport a una espermatogènesi normal, les cèl·lules de

Sertoli immadures tenen capacitat de nodrir cèl·lules germinals disgenètiques i desenvolupar tumors testiculars.

BIBLIOGRAFIA

- ALLAN, C. M.; GARCIA, A.; SPALIVIERO, J., ZHANG, F. P.; JIMENEZ, M.; HUHTANIEMI, I.; HANDELSMAN, D. J. (2004). «Complete Sertoli cell proliferation induced by follicle-stimulating hormone (FSH) independently of luteinizing hormone activity: evidence from genetic models of isolated FSH action». *Endocrinology*, 145: 1587-1593.
- ANTICH, M.; FABIAN, E.; SARQUELLA, J.; BASSAS, L. (1995a). «Effect of testicular damage induced by cryptorchidism on insulin-like growth factor-I receptors in rat Sertoli cells». *J. Reprod. Fertil.*, 104: 267-275.
- ANTICH, M.; FARRE, R. M.; FABIAN, E.; SARQUELLA, J.; BASSAS, L. (1995b). «Localización inmunohistoquímica del IGF-I y su receptor y del receptor de EGF en testículo y epidídimo de rata normal y criptorquídica». *Endocrinología*, 42: 20-21.
- ARAMBEPOLA, N. K.; BUNICK, D.; COOKE, P. S. (1998). «Thyroid hormone effects on androgen receptor messenger RNA expression in rat Sertoli and peritubular cells». *J. Endocrinol.*, 156: 43-50.
- BARTLETT, J. M. S.; SPITERI-GRECH, J.; NIESCHLAG, E. (1990). «Regulation of insulin-like growth factor I and stage-specific levels of epidermal growth factor in stage synchronized rat testes». *Endocrinology*, 127: 747-758.
- BERGH, A.; HELANDER, H. F. (1978). «Testicular development in the unilaterally cryptorchid rat». *Int. J. Androl.*, 1: 440-458.
- BOUJRAD, N.; HOCHERAU-DE RIEVIERS, M. T.; CARREAU, S. (1995). «Evidence for germ cell control of Sertoli cell function in three models of germ cell depletion in the adult rat». *Biol. Reprod.*, 53: 1345-1352.
- CASTILLA-CORTÁZAR, I.; DIEZ, N.; GARCIA-FERNANDEZ, M.; PUCHE, J. E.; DIEZ-CABALLERO, F.; QUIROGA, J.; DIAZ-SANCHEZ, M.; CASTILLA, A.; CASARES, A. D.; VARELA-NIETO, I.; PRIETO, J.; GONZALEZ-BARON, S. (2004). «Hematotesticular barrier is altered from early stages of liver cirrhosis: effect of insulin-like growth factor 1». *World. J. Gastroenterol.*, 10: 2529-2534.
- CORTES, D.; MULLER, J.; SKAKKEBAEK, N. E. (1987). «Proliferation of Sertoli cells during development of the human testis assessed by stereological methods». *Int. J. Androl.*, 10: 589-596.
- DE KRETZER, D. M.; LOVELAND, K. L.; MEINHARDT, A.; SIMORANGKIR, D.; WRELFORD, N. (1998). «Spermatogenesis». *Hum. Reprod.*, 13: 1-8.
- FRANKE, F. E.; PAULS, K.; REY, R.; MARKS, A.; BERGMANN, M.; STEGER, K. (2004). «Differentiation markers of Sertoli cells and germ cells in fetal and early postnatal human testis». *Anat. Embryol.*, 209: 169-177.
- GNESI, L.; FABBRI, A.; SPERA, G. (1997). «Gonadal peptides as mediators of development and functional control of the testis: an integrated system with hormones and local environment». *End. Rev.*, 18: 541-609.
- HANSSON, H. A.; BILLIG, H.; ISGAARD, J. (1989). «Insulin-like growth factor I in the developing and mature rat testis: immunohistochemical aspects». *Biol. Reprod.*, 40: 1321-1328.
- HOEBEN, E.; DEBOEL, L.; ROMBAUTS, L.; HEYNS, W.; VERHOEVEN, G. (1994). «Different cells and cell lines produce factors that modulate Sertoli cell function». *Mol. Cell. Endocrinol.*, 101: 263-275.
- JANNINI, E. A.; CRESCENZI, A.; RUCCI, N.; SCREPONI, E.; CAROSA, E.; DE MATTEIS, A.; MACCHIA, E.; D'AMATI, G.; D'ARMIENTO, M. (2000). «Ontogenetic pattern of thyroid hormone receptor expression in the human testis». *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 85: 3453-3457.
- JANNINI, E. A.; ULISSE, S.; D'ARMIENTO, M. (1995). «Thyroid hormone and male gonadal function». *End. Rev.*, 16: 443-459.
- MAYMON, B. B.-S.; PAZ, G.; ELLIOTT, D. J.; HAMMEL, I.; KLEIMAN, S. E.; YOGEV, L.; HAUSER, R.; BOTCHAN, A.; YAVETZ, H. (2000). «Maturation phenotype of Sertoli cells in testicular biopsies of azoospermic men». *Hum. Reprod.*, 15: 1537-1542.
- MAYMON, B. B.-S.; YOGEV, L.; PAZ, G.; KLEIMAN, S. E.; SCHRIBER, L.; BOTCHAN, A.; HAUSER, R.; YAVETZ, H. (2002). «Sertoli cell maturation in men with azoospermia of different etiologies». *Fertil. Steril.*, 77: 904-909.
- MOORE, A.; MORRIS, I. D. (1993). «The involvement of insulin-like growth factor-I in local control of steroidogenesis and DNA synthesis of Leydig and non-Leydig cells in the rat testicular interstitium». *J. Endocrinol.*, 138: 107-114.
- NAKAYAMA, Y.; YAMAMOTO, T.; ABE, S. I. (1999). «IGF-I, IGF-II and insulin promote differentiation of spermatogonia to primary spermatocytes in organ culture of newt testes». *Int. J. Dev. Biol.*, 43: 343-347.
- OONK, R. B.; GROOTGOED, J. A. (1988). «Insulin-like growth factor I (IGF-I) receptors on Sertoli cells from immature rats and age-dependent testicular binding of IGF-I and insulin». *Mol. Cell. Endocrinol.*, 55: 33-43.
- OONK, R. B.; JANSEN, R.; GROOTGOED, J. A. (1989). «Differential effects of follicle-stimulating hormone, insulin and insulin-like growth factor I on hexose uptake and lactate production by rat Sertoli cells». *J. Cell. Physiol.*, 139: 210-218.
- OZKURKUGIL, C.; YARDIMOGLU, M.; DALCIK, H.; ERDOGAN, S.; GOKALP, A. (2004). «Effect of insulin-like growth factor-1 on apoptosis of rat testicular germ cells induced by testicular torsion». *Brit. J. Urol.*, 93: 1094-1097.
- PEREZ-INFANTE, V.; BARDIN, C. W.; GUNSALES, G. L.; MUSTO, N. A.; RICH, K. A.; MATHER, J. P. (1986).

- «Differential regulation of testicular transferrin and androgen-binding protein secretion in primary cultures of rat Sertoli cells». *Endocrinology*, 118: 383-392.
- PRETZER, D.; GHADA, J. A.; RONE, G. M. (1994). «Growth factors (EGF, IGF-I) modulate the morphological differentiation of adult marmoset (*Callithrix jacchus*) Sertoli cells in vitro». *J. Androl.*, 15: 398-409.
- RAJPERT-DE MEYTS, E.; JORGENSEN, N.; GRAEM, N.; MULLER, J.; CATE, R. L.; SKAKKEBAEK, N. E. (1999). «Expression of anti-Mullerian hormone during normal and pathological gonadal development: association with differentiation of Sertoli and granulosa cells». *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 84: 3836-3844.
- REGADERA, J.; MARTINEZ-GARCIA, F.; GONZALEZ-PERAMATAO, P.; SERRANO, A.; NISTAL, M.; SUAREZ-QUIAN, C. (2001). «Androgen receptor expression in Sertoli cells as a function of seminiferous tubule maturation in the human cryptorchid testis». *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 86: 413-421.
- SHARPE, R. M. (1994). «Regulation of spermatogenesis». A: KNOBIL, E.; NEILL, J. D. [ed.] *The Physiology of Reproduction*. 2a ed. Nova York: Raven Press, p. 1363-1434.
- SHARPE, R. M.; MCKINNEL, C.; KIVLIN, C.; FISHER, J. S. (2003). «Proliferation and functional maturation of Sertoli cells, and their relevance to disorders of testis function in adulthood». *Reproduction*, 125: 769-84.
- SKAKKEBAEK, N. E.; RAJPERT-DE MEYTS, E.; MAIN, K. M. (2001). «Testicular dysgenesis syndrome: an increasingly common developmental disorder with environmental aspects». *Hum. Reprod.*, 16: 972-978.
- SKINNER, M. K. (1991). «Cell-cell interactions in the testis». *End. Rev.*, 12: 45-63.
- SÖDER, O.; BAURG, P.; WAHAB, A.; PARVINEN, M. (1992). «Insulin-like growth factors selectively stimulate spermatogonial, but not meiotic, deoxyribonucleic acid synthesis during rat spermatogenesis». *Endocrinology*, 131: 2344-2350.
- SPITERI-GRECH, J.; NIESCHLAG, E. (1992). «The role of growth hormone and insulin-like growth factor I in the regulation of male reproductive function». *Horm. Res.*, 38: 22-27.
- (1993). «Paracrine factors relevant to the regulation of spermatogenesis - a review». *J. Reprod. Fertil.*, 98: 1-14.
- SPITERI-GRECH, J.; BARTLETT, J. M. S.; NIESCHLAG, E. (1991). «Hormonal regulation of epidermal growth factor and insulin-like growth factor-I in adult male hypophysectomized rats treated with ethane dimethane sulphate». *J. Endocrinol.*, 129: 109-117.
- STEGER, K.; REY, R.; KLIESCH, S.; LOUIS, F.; SCHLEICHER, G.; BERGMANN, M. (1996). «Immunohistochemical detection of immature Sertoli cell markers in testicular tissue of infertile adult men: a preliminary study». *Int. J. Androl.*, 19: 122-128.
- STEGER, K.; REY, R.; LOUIS, F.; KLIESCH, S.; BEHRE, H. M.; NIESCHLAG, E.; HOEFFNER, W.; BAILEY, D.; MARKS, A.; BERGMANN, M. (1999). «Reversion of the differentiated phenotype and maturation block in Sertoli cells in pathological human testis». *Hum. Reprod.*, 14: 136-143.
- TAJIMA, Y.; WATANABE, D.; KOSHIMIZU, U.; MATSUZAWA, T.; NISHIMUNE, Y. (1995). «Insulin-like growth factor-I and transforming growth factor- α stimulate differentiation of Type A spermatogonia in organ culture of adult mouse cryptorchid testes». *Int. J. Androl.*, 18: 8-12.
- TAN, K. A.; DE GENDT, K.; ATANASSOVA, N.; WALKER, M.; SHARPE, R. M.; SAUNDERS, P. T.; DENOLET, E.; VERHOEVEN, G. (2005). «The role of androgens in Sertoli cell proliferation and functional maturation: studies in mice with total or Sertoli cell-selective ablation of the androgen receptor». *Endocrinology*, 146: 2674-2683.
- YOUNG, J.; REY, R.; COUZINET, B.; CHANSON, P.; JOSSE, N.; SCHAISON, G. (1999). «Antimullerian hormone in patients with hypogonadotropic hypogonadism». *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 84: 2696-2699.