

O significado biológico da célula de Sertoli na espermatogénese



M.L. Pereira*, F. Garcia e Costa**

* Departamento de Biologia, Universidade de Aveiro

** Secção de Histologia e Anatomia Patológica, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa

Editado por: Clara Pinto Correia

Resumo

As células de Sertoli são um grupo de células somáticas localizadas no epitélio seminífero. Neste trabalho são descritas algumas das suas características morfológicas relacionadas com o papel relevante que desempenham na espermatogénese. Assim, são referidos os aspectos citológicos e ultraestruturais ligados às suas funções de suporte e nutrição dos elementos da linha germinativa e os que se prendem com as importantes funções que exercem na evolução e regulação da gametogénese masculina. Dá-se particular ênfase ao significado das células de Sertoli na formação e manutenção da barreira hemato-testicular, dado o papel fulcral que a mesma tem no desenvolvimento normal dos espermatozóides e a importância das suas alterações em numerosos processos toxicológicos.

Introdução

As células de Sertoli são células somáticas que fazem parte, conjuntamente com as células da linha germinativa, do epitélio que reveste os tubos seminíferos. As células germinativas alojam-se em compartimentos delimitados pela membrana das células de Sertoli, mantendo com ela estritas relações morfológicas e funcionais. Representam, após a puberdade, cerca de 10% das células do epitélio seminífero e ocupam uma posição estratégica no mesmo. A sua disposição, a íntima relação com os elementos da linha germinativa e actividade secretora, controlada e controladora de factores hormonais que condicionam a espermatogénese, faz com que desempenhem um papel crucial no desenvolvimento deste processo.

Morfologia das células de Sertoli

As células de Sertoli são células somáticas que assentam na membrana basal do tubo seminífero e atingem a superfície do epitélio. São basicamente prismáticas ou piramidais, com cerca de 70 µm

de altura, embora os seus contornos se apresentem muito irregulares devido à presença de numerosos recessos laterais onde se alojam os elementos da linha espermatogénica ou seminal. (Jégou 1992; Fawcett 1994). Constituem, após a puberdade, cerca de 10% das células do tubo seminífero ocupando uma posição estratégica que lhes permite um íntimo contacto com todos os elementos da linha germinativa, situados entre a membrana basal e a luz do mesmo.

Ao microscópio de luz (ML) o citoplasma da célula de Sertoli é claro e está preenchido pelos elementos da linha germinativa, não sendo possível observar os seus contornos. O núcleo, bem visível nas preparações histológicas, apresenta contorno oval ou elipsóide, é claro e tem um nucléolo bem evidente (Fawcett 1994). Embora o núcleo esteja em regra próximo da base da célula, a sua posição e a forma varia nas diferentes associações celulares da linha espermatogénica (Cross e Mercer 1993).

Em microscopia electrónica de transmissão (TEM), observa-se que o invólucro nuclear se apresenta frequentemente endentado, com uma invaginação, cujo eixo maior é perpendicular à membrana basal. O nucleoplasma é claro e contém um nucléolo característico, de tipo reticular, associado a duas massas de heterocromatina (Cross e Mercer 1993; Fawcett 1994).

O estudo da ultraestrutura destas células revela também, no citoplasma, um retículo endoplásmico rugoso (RER) pouco desenvolvido enquanto que o liso (REL) é abundante sob a forma de redes de túbulos, situadas principalmente junto à base da célula. Por vezes o REL apresenta-se organizado em cisternas que envolvem gotículas lipídicas (Fawcett 1994). As mitocôndrias, de ultraestrutura típica, têm forma esféricas ou são alongadas dispendo-se, neste caso, perpendicularmente à membrana basal do tubo seminífero. O complexo de Golgi está bem desenvolvido. No citoplasma observam-se ainda grânulos de glicogénio, lisossomas primários e secundários e gotículas lipídicas. Na espécie humana, a porção basal do citoplasma da célula de Sertoli apresenta corpúsculos fusiformes, denominados inclusões de Charcot-Bottcher, visíveis ao ML.

O citosqueleto é constituído por duas redes de filamentos de actina, uma na zona subjacente à membrana plasmática e outra envolvendo o núcleo; feixes de filamentos intermédios dispõem-se paralelamente ao eixo maior da célula e, em certas fases da espermatogénese, encontram-se numerosos microtúbulos na zona supranuclear, paralelos aos mesmos. O grande desenvolvimento do citosqueleto está relacionado com o papel das células de Sertoli nos movimentos dos elementos da linha germinativa (Fawcett 1994).

A barreira hemato-testicular

Ainda ao nível ultraestrutural, observa-se que as porções apical e laterais da célula de Sertoli apresentam um contorno irregular (Fig. 1). São evidentes reentrâncias e prolongamentos destas células, como foi já referido, que formam compartimentos onde se alojam os elementos da linha germinativa. Estas características não são visíveis ao ML o que levou os antigos histologistas a postular a existência de um *sincício sertoliano*. A TEM levou ao abandono deste conceito revelando que as células de Sertoli estão separadas e demonstrando as junções que ligam os prolongamentos de duas células contíguas.

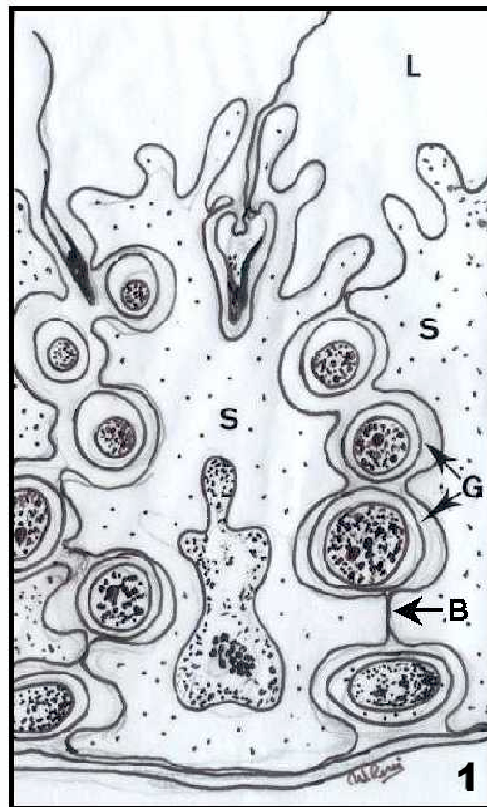


Figura 1 - Desenho esquemático de uma secção do tubo seminífero, mostrando a organização das células de Sertoli (**S**) e células germinativas em vários estádios de desenvolvimento (**G**); (**L**) – Luz do tubo seminífero; (**B**) – barreira hemato-testicular.

Ao microscópio electrónico foi ainda possível observar que as células de Sertoli se ligam às da linhagem seminal através de especializações juncionais características (O'Donnell *et al.*, 2000).

As extensões citoplasmáticas das células de Sertoli contactam com as das células adjacentes, através de complexos juncionais. Estão descritas junções do tipo *gap* ou *nexus* e ainda de tipo *adherens*. Além destas são muito importantes as junções de oclusão. Estas últimas constituem a base morfológica de uma barreira (Fig. 2) - a *barreira hemato-testicular* - a qual impede a

passagem de macromoléculas entre o sangue, através do líquido situado no espaço intersticial, e a luz do tubo seminífero. Criam-se assim dois compartimentos:

- o *basal*, localizado entre aquelas junções e a membrana basal do tubo seminífero
- o *adluminal*, acima das junções e em contacto com a luz do tubo.

No primeiro situam-se as espermatogónias e os espermatócitos na fase de preleptóteno; no segundo todos os outros elementos da linha germinativa.

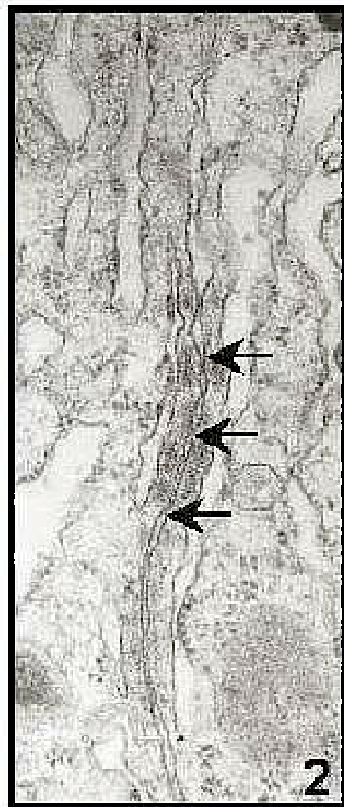


Figura 2 Ultraestrutura da barreira hemato-testicular de ratinho (←), evidenciando os elementos constituintes. 30 000x

Vários têm sido os estudos efectuados no âmbito da caracterização morfo-funcional da barreira hemato-testicular (Setchell 1980; Heshmati *et al.*, 1984; Tindall *et al.*, 1985; Pelletier and Byers 1992; Jégou 1992; Ploen and Setchell 1992; Carreau *et al.*, 1994; Pelletier 1995; Ishizaka and Oshima 1997). Isto porque uma das funções mais importantes das células de Sertoli é precisamente originar aqueles compartimentos onde se formam microambientes indispensáveis à espermatogénese (Griswold 1995; 1998). Esta compartimentação isola as células onde ocorrem as fases meiótica e pós-meiótica da espermatogénese as quais se processam no compartimento

adluminal. Por outro lado, os produtos de secreção das células de Sertoli, assim como os das células germinativas em meiose, determinam a composição do meio existente naquele compartimento, podendo influenciar o desenvolvimento destas últimas.

As junções entre as células de Sertoli modificam-se de modo a permitir a passagem dos espermátócitos em preleptóteno do compartimento basal para o adluminal, quando estes iniciam a meiose, o que significa que existe uma *dinâmica das junções* que permite que as células envolvidas no processo da espermatogénese caminhem no sentido da luz do tubo seminífero, sem ruptura da barreira (Lui *et al.*, 2001).

Estudos experimentais recentes demonstraram que a modificação das proteínas associadas às junções de oclusão está na base do aumento da permeabilidade da barreira hemato-testicular, observada em várias situações experimentais e patológicas (Tao *et al.*, 2000; Wiebe *et al.*, 2000). Nestes casos ocorre alteração da espermatogénese como consequência da desorganização do citosqueleto da célula de Sertoli.

No estudo da barreira hemato-testicular a integridade da mesma pode ser demonstrada através de traçadores. Assim, a funcionalidade desta barreira pode ser posta em evidência, em biópsias testiculares, através da utilização de traçadores adicionados às soluções fixadoras. Dentro destes contam-se o nitrato de níquel (Cavicchia *et al.*, 1992), a peroxidase de rábano (Pereira 1995) e o nitrato de lantânio (Levy *et al.*, 1999). Assim, em situações normais em que a espermatogénese não está afectada, as especializações juncionais impedem a difusão do traçador para o compartimento adluminal. Noutros casos o traçador difunde-se livremente em direcção ao lúmen, tal como acontece em algumas situações patológicas (Meyer *et al.*, 1996; Chung and Cheng 2001).

Papel das células de Sertoli na espermatogénese

As células de Sertoli desempenham outros papéis importante na espermatogénese, além da sua intervenção na formação da barreira hemato-testicular, anteriormente referida. Fornecem o suporte estrutural e metabólico necessário às células germinativas e controlam a nutrição das mesmas durante a espermatogénese, dado o seu íntimo contacto que com elas estabelecem. Fagocitam e digerem o citoplasma residual das espermátides, resultante da espermiogénese. Estes fragmentos de citoplasma são também designados de *corpos residuais*. Digerem ainda células germinativas em degenerescência. O grande número de lisossomas primários, secundários e também de aglomerados de pigmentos lipocrómicos, presentes no citoplasma, traduz esta intensa actividade digestiva (Fawcett 1994).

Têm também uma intensa actividade secretora, embora esta função varie com a maturidade sexual. Participam na produção do fluido que serve para o transporte dos espermatozóides. Nos tubos seminíferos de animais que atingiram a maturidade sexual as células de Sertoli segregam numerosas proteínas. No sobrenadante de culturas enriquecidas em células de Sertoli, foram identificadas mais de 10 proteínas cuja secreção é sensível, entre outros, a estímulos hormonais. Uma dessas proteínas, a *androgen-binding protein* (ABP) sabe-se que se liga à testosterona e à hidroxitestosterona segregada pelas células intersticiais, sendo um importante factor para a maturação das células seminais. Uma outra proteína importante segregada pelas células de Sertoli é a *transferrina testicular*, indispensável à maturação das células germinativas. O Fe da transferrina testicular resulta da captação, por receptores existentes na membrana da célula de Sertoli, da transferrina sérica. A célula de Sertoli além de sintetizar esta nova proteína férrica, transporta-a em seguida para o compartimento adluminal. Demonstrou-se que a quantidade desta proteína sintetizada pelas células de Sertoli é estimulada pelo contacto com células da linha germinativa e que este estímulo varia com os estádio de desenvolvimento daquelas células (Cross and Mercer 1993; Fawcett 1994). Este facto é demonstrativo da sensibilidade das células de Sertoli a factores provenientes das células da linha germinativa, para além de hormonas como a testosterona e da FSH hipofisária. Por sua vez as células de Sertoli produzem uma proteína, a *inibina*, com acção supressora da síntese da FSH pela hipófise.

As células de Sertoli controlam ainda o movimentos das células da linha germinativa. O grande desenvolvimento do citosqueleto, já referido e que inclui abundantes filamentos de actina, filamentos intermédios e microtúbulos, prende-se com este aspecto funcional. Aliás a forma das células de Sertoli e a localização do núcleo variam, como já se referiu, com os movimentos das células germinativas, que durante o processo de maturação se deslocam da base para o lume do tubo seminífero, ficando, numa fase final da espermatogénese, as espermátides, já diferenciadas em espermatozóides, ligadas, pela região da cabeça, à parte apical das células de Sertoli. Na libertação dos esrmatozóides para a luz do tubo seminífero, a *espermiação*, são ainda as células de Sertoli o factor determinante.

Acção de substâncias tóxicas sobre as células de Sertoli

As células de Sertoli são susceptíveis à acção de numerosas substâncias tóxicas, nomeadamente pesticidas e metais pesados, conduzindo à morte das células germinativas (Boekelheide *et al.*, 2000; Monsees *et al.*, 2000). Vários têm sido os dados da literatura que se referem a alterações morfológicas e funcionais destas células induzidas por xenobióticos. Assim, alguns afectam o

citoesqueleto das células de Sertoli (Hess and Nakai 2000; Raychoudhury *et al.*, 2000). Outros induzem a condensação da cromatina dessas células somáticas (Raychoudhury *et al.*, 1999). Contudo, a alteração mais evidente em várias situações experimentais corresponde à vacuolização do citoplasma (Soldani *et al.*, 1996; Contreras and Bustos-Obregon 1999). Adicionalmente, a modificação da permeabilidade da barreira hemato-testicular constitui ainda um alvo de extrema importância em disfunções do testículo (Meyer *et al.*, 1996; Wiebe *et al.*, 2000; Mizushima *et al.*, 2001).

Considerações finais

Como ficou referido, a célula de Sertoli desempenha um papel fundamental na espermatogénese (suporte mecânico, nutrição e movimento das células germinativas, regulação parácrina através da síntese de proteínas, fagocitose, síntese e metabolismo de hormonas esteróides e espermição) contribuindo decisivamente para este processo. Sendo uma célula afectada em numerosos processos de intoxicação, as suas lesões são nestes casos um factor primordial na patogenia das perturbações da gametogénese.

Apesar da profundidade dos conhecimentos já obtidos sobre as células de Sertoli e o significado biológico da barreira hemato-testicular, estes continuam a ser objecto de intensa investigação. Novas técnicas, nomeadamente de biologia molecular, estão a ser utilizadas no desenvolvimento dos conhecimentos nesta matéria.

Referências

- Boekelheide K., Fleming S. L., Johnson K. J., Patel S. R. and Schoenfeld H. A. (2000). Role of Sertoli cells in injury-associated testicular germ cell apoptosis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **225**: 105-115.
- Carreau S., Foucault P., and Drosdowsky M. A. (1994). Sertoli cells. Functional aspects compared in rats, pigs and man. *Ann. Endocrinol.*, **55**: 203-220.
- Cavicchia J. C., Sacerdote F. L., and Gutierrez L. A. (1992). Nickel nitrate: a new junction permeability tracer for the study of the blood-testis barrier. *Microsc. Res. Tech.*, **20**: 34-42.
- Cross, P. C. and Mercer, K. L. (1993). Spermatogenesis *In*: Cell and Tissue Ultrastructure - A Functional perspective, Freeman, W. H. and Co, Ltd. England, pp. 336-350.
- Chung N. P. and Cheng C. Y. (2001). Is cadmium chloride-induced inter-sertoli tight junction permeability barrier disruption a suitable *in vitro* model to study the events of junction disassembly during spermatogenesis in the rat testis ? *Endocrinol.*, **142**: 1878-1888.

- Contreras H. R. and Bustos-Obregon E. (1999). Morphological alterations in mouse testis by a single dose of malathion. *J. Exp. Zool.*, **284**: 355-359.
- Fawcett, D. W. (1994). *In: A Textbook of Histology*, 12th Ed. Chaoman & Hall, New York, 770-772.
- Griswold M. D. (1995). Interactions between germ cells and Sertoli cells in the testis. *Biol. Reprod.*, **52**: 211-216.
- Griswold M. D. (1998). The central role of Sertoli cells in spermatogenesis. *Semin. Cell Dev. Biol.*, **9**: 379-391.
- Hesmati H. M., Taleb M., and Turpin G. (1984). The blood-testis barrier. *Ann. Endocrinol.*, **45**: 115-117.
- Hess R. A. and Nakai M. (2000). Histopathology of the male reproductive system induced by the fungicide benomyl. *Histol. Histopathol.*, **15**: 207-224.
- Ishizaka K., and Oshima H. (1997). Organization and regulation of spermatogenesis. *Nippon Rinsho* **55**: 2816-2821.
- Jégou U, B. (1992). The Sertoli cell *in vivo* and *in vitro*. *Cell Biol. Toxicol.*, **8**: 49-54.
- Levy S., Serre V., Hermo L., and Robaire B. (1999). The effects of aging on the seminiferous epithelium and the blood-testis barrier of the Brown Norway rat. *J. Androl.*, **20**: 356-365.
- Lui W. Y., Lee W. M., and Cheng C. Y. (2001). Transforming growth factor-beta3 perturbs the inter-sertoli tight junction permeability barrier *in vitro* possibly mediated via its effects on occludin, zonula occludens-1, and claudin-11. *Endocrinol.*, **142**: 1865-1877.
- Meyer J. M., Mezrahi P., Vignon F., Chabrier G., Reiss D. and Rumpler Y. (1996). Sertoli cell barrier dysfunction and spermatogenetic cycle breakdown in the human testis: a lanthanum tracer investigation. *Int. J. Androl.*, **19**: 190-198.
- Mizushima H, Nakamura Y, Matsumoto H, Dohi K, Matsumoto K, Shioda S, Banks WA. (2001). The effect of cardiac arrest on the blood-testis barrier to albumin, tumor necrosis factor-alpha, pituitary adenylate cyclase activating polypeptide, sucrose, and verapamil in the mouse. *J. Androl.*, **22**: 225-260.
- Monsees T. K., Franz M., Gebhardt S., Winterstein U., Schill W. B., and Hayatpour J. (2000). Sertoli cells as a target for reproductive hazards. *Andrologia* **32**: 239-46.
- O'Donnell L., Stanton P. G., Bartles J. R., and Robertson D. M., (2000). Sertoli cell ectoplasmic specializations in the seminiferous epithelium of the testosterone-suppressed adult rat. *Biol. Reprod.*, **63**: 99-108.
- Pelletier R. M., and Byers S. W. (1992). The blood-testis barrier and Sertoli cell junctions: structural considerations. *Microsc. Res. Tech.* **20**: 3-33.
- Pelletier, R. M. (1995). Le rôle des jonctions intercellulaires dans le fonctionnement de la barrière hémato-testiculaire. *Médecine/Sciences*, **11**: 605-609.

Ploen, L. and Setchell, B. P. (1992) Blood-testis barrier revisited. A Homage to Lennart Nicander. *Internat. J. Androl.*, **15**: 1-4.

Pereira M. L. (1995). Studies on the permeability of the blood-testis barrier in stainless steel-administered mice. *Cell Biol Internat.*, **19**: 619-624.

Raychoudhury S. S., Blake C. A. and Millette C. F. (1999). Toxic effects of octylphenol on cultures rat spermatogenic cells and Sertoli cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **157**: 192-202.

Raychoudhury S. S., Flowers A. F., Millette C. F. and Finlay M. F. (2000). Toxic effects of polychlorinated biphenyls on cultured rat Sertoli cells. *J. Androl.*, **21**: 964-973.

Setchell, B. P. (1980). The Functional significance of the Blood-testis Barrier. *J. Androl.*, **1**: 3-10.

Soldani P. Pellegrini A., Gesi M., Lenzi P. And Paparelli A. (1996). Suramin-induced ultrastructural changes in the testis of albino rats. *Exp. Toxicol. Pathol.*, **48**: 299-305.

Tao L., Zupp J. L., and Setchell B. P. (2000). Effect of efferent duct ligation on the function of the blood-testis barrier in rats. *J. Reprod. Fertil.*, **120**: 13-18.

Tindall, D. J., Rowley, D. R., Murthy, L., Lipshultz and Chang, C. H. (1985). Structure and Biochemistry of the Sertoli Cell. *Int. Rev. Cytol.*, **94**: 127-149.

Wiebe J. P., Kowalik A., Gallardi R. L., Egeler O., and Clubb B. H. (2000). Glycerol disrupts tight junction-associated actin microfilaments, occludin, and microtubules in Sertoli cells. *J. Androl.*, **21**: 625-635.