

## Regulación inmuno-testicular y citocinas.

*Giovanny Vivas-A<sup>1</sup>, Jesús Lozano-H<sup>1</sup> y Judith Velasco<sup>2</sup>.*

<sup>1</sup>Laboratorio de Investigaciones Fisiopatológicas (LIF), Departamento de Bioanálisis Clínico y <sup>2</sup>Cátedra de Bacteriología, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela. Correo electrónico: giovanny@ula.ve

**Palabras clave:** Regulación inmunológica, citocinas, testículo, espermatogénesis, infertilidad.

**Resumen.** La patogénesis de la infertilidad masculina se puede reflejar en una alteración de la espermatogénesis, causada por cáncer testicular, aplasia de las células germinales, varicocele, factores ambientales o defecto en el transporte de los espermatozoides, entre otros. En general, un 48% de hombres cursa con esterilidad sin causa aparente. Durante mucho tiempo, el tracto reproductor masculino y el sistema inmunológico han sido estudiados como sistemas diferentes e independientes. Sin embargo, en las dos últimas décadas se ha despertado un particular interés por la interacción de ambos sistemas en la infertilidad masculina, con énfasis en la evaluación de anticuerpos antiespermáticos como causa común de infertilidad. Además, la inflamación debida a infecciones genitales o sistémicas puede causar alteraciones en la función testicular. El reconocimiento de los antígenos intratesticulares, provoca la producción de anticuerpos por parte de los linfocitos B. Luego, el sistema inmunológico induce una respuesta celular, mediante la secreción de citoquinas, activación del complemento y activación de los linfocitos T. En la presente revisión se examinarán los componentes y el mecanismo de respuesta del sistema inmunológico, la organización del testículo como órgano reproductor, los mediadores de la respuesta inmunológica: interleucina-1 (IL-1), IL-6 Factor Inhibidor de la Leucemia, Factor de necrosis tumoral  $\alpha$ , Molécula FasL (CD95L) y Fas (CD95), Factor inhibitorio de la migración de macrófagos, Factor Estimulador de las Colonias de Fagocitos Mononucleares y Factor Estimulador de las Colonias de Granulocitos/macrófagos, así como Factor de Células Madres, Interferón, Factor de Transformación y Crecimiento  $\beta$  y citocinas.

**Immune-testicular regulation and cytokines.***Invest Clín 2007; 48(1): 107 - 121***Key words:** Immune, regulation, cytokines, testis, spermatogenesis, infertility.

**Abstract.** The pathogenesis of male infertility can be reflected in alterations of spermatogenesis caused by testicular cancer, aplasia of the germinal cells, varicocele, environmental factors or defect in the transport of the sperms, among others. In general, 48% of men suffer unexplained infertility. During a long time, the masculine reproductive tract and the immune system have been studied as different and independent systems. However, in the last two decades a particular interest has arisen in the interaction of both systems on masculine infertility, in particular in the evaluation of antisperm antibodies as a common cause of infertility. Also, the inflammation due to genital or systemic infections can cause alterations in the testicular function. The recognition of intratesticular antigens provokes the production of antibodies by B lymphocytes. Then, the immune system induces a cellular response, by cytokines secretion, activation of complement and T lymphocytes activation. In this review the components and the immune system response mechanism, the organization of the testicle as a reproductive organ and the mediators of the immunologic response will be examined: interleukin-1 (IL-1), IL-6, leukemia Inhibitory factor, tumor necrosis factor- $\alpha$ , the molecule FasL (CD95L) and Fas (CD95), macrophage migration-inhibitory factor, mononuclear phagocyte colony stimulating factor, Granulocyte/macrophage colony stimulating factor, as well as stem cell factor, interferon, transforming growth factor B and activins.

*Recibido: 03-03-2006. Aceptado: 20-07-2006.*

**INTRODUCCIÓN**

La patogénesis de la infertilidad masculina se puede reflejar en una espermatogénesis defectuosa debido a desordenes funcionales de la hipófisis, cáncer testicular, aplasia de las células germinales, varicocele, factores ambientales y defecto en el transporte de los espermatozoides; así como anomalías congénitas, factores neurológicos o procesos infecciosos (1-6). En general, un 48% de hombres cursa con esterilidad sin causa aparente (ESCA) y el desconocimiento de la causa de cualquier patología hace difícil e ineficaz su tratamiento (7-9).

Durante mucho tiempo, el tracto reproductor masculino y el sistema inmunológico han sido estudiados y tratados como sistemas diferentes e independientes. Sin embargo, en las dos últimas décadas se ha despertado un particular interés por la interacción de ambos sistemas en la infertilidad masculina, en particular la evaluación de anticuerpos antiespermáticos como causa común de infertilidad. Además, la inflamación debida a infecciones genitales o sistémicas puede causar alteraciones en la función testicular con relación a la producción de andrógenos y de espermatozoides (10-12).

Se ha demostrado el papel que juega la inmunidad mediada por células y la inmuni-

dad humoral en la infertilidad y aunque se ha estudiado la respuesta inmunológica como causa de infertilidad, aun existen problemas para su investigación y su diagnóstico (10, 12). En este sentido, los hallazgos de Turek y Lipshultz (13), señalan que en muestras de semen con leucocitospermia existe un déficit funcional gonadal inducido por citoquinas.

El testículo es un compartimiento altamente especializado dentro del cual la función gametogénica es llevada a cabo en compartimientos especializados delimitados por la barrera hematotesticular, formada por las uniones herméticas entre las células de Sertoli y un sistema inmunosupresor peritubular. La alteración de esta barrera conlleva a la exposición de los antígenos espermáticos a las células del sistema inmune como son los macrófagos y los polimorfonucleares. Los antígenos espermáticos que se producen en la pubertad, se mantienen aislados gracias a este sistema inmunoregulador. Este privilegio inmune del testículo se cree que es para incrementar la necesidad de prevenir la respuesta inmune contra los autoantígenos de las células germinales meióticas y haploides, las cuales permanecen en el testículo durante la pubertad, luego de un periodo de tolerancia en la etapa perinatal (14).

El reconocimiento de estos antígenos intratesticulares por el sistema inmunológico sistémico desencadena la producción de anticuerpos por parte de linfocitos B, mediante el mecanismo de inmunidad humoral. Luego, el sistema inmunológico induce una respuesta celular una vez que estos antígenos espermáticos son reconocidos como agentes extraños, mediante la secreción de citoquinas, activación del complemento y activación de los linfocitos T (15).

En la presente revisión se examinarán los componentes y el mecanismo de respuesta del sistema inmunológico, la organización del testículo como órgano reproduc-

tor y las relaciones que existen entre las células germinales e intersticiales del testículo con los mediadores de la respuesta inmunológica: linfocitos, macrófagos, citoquinas y anticuerpos antiespermáticos.

### ORGANIZACIÓN DEL TESTÍCULO Y SUS MECANISMOS DE CONTROL

El testículo cumple dos funciones específicas como son la producción y liberación de esteroides sexuales como la testosterona (T5) mediada por la Hormona Luteinizante (LH) y la producción de espermatozoides por la acción de la Hormona Folículo Estimulante (FSH) (16).

La FSH y la LH envían señales a través de las células de Sertoli y células peritubulares, las cuales liberan sustancias químicas necesarias para la espermatogénesis (16). Esto ocurre en los túbulos seminíferos del testículo adulto, donde las células de Sertoli cumplen función de sostén y aporte de nutrientes y factores de crecimiento para las células germinales en desarrollo (17). Dicho proceso, está altamente coordinado dentro de cada región del epitelio seminífero y ocurre de forma cíclica e involucra mecanismos endocrinos y locales (paracrina/autocrino) (17).

Cada túbulo seminífero se encuentra rodeado por células mesenquimáticas peritubulares o mioideas, dichas células contienen elementos contráctiles que generan ondas peristálticas a lo largo de los túbulos para transportar los espermatozoides inmóviles a la red testicular y al epidídimo. Aunque estas células no forman una hermética barrera de difusión, su presencia juega un papel importante en la señal de trasducción entre las células intersticiales y las de los túbulos seminíferos, dicha barrera se conoce como barrera hematotesticular, constituida por un compartimiento tubular y un compartimiento vascular (18). El compartimiento tubular consta de la lámina basal de

los túbulos seminíferos, una capa de células mioides y principalmente por las células de Sertoli las cuales rodean completamente con sus prolongaciones citoplasmáticas a las células germinales y están adheridas entre sí por uniones herméticas entre sus membranas. Esta disposición de los elementos de la barrera del compartimiento tubular, impide el contacto directo entre las células inmunocompetentes o sus productos y las células germinales (13).

El compartimiento vascular está formado por las células endoteliales de los capilares, las cuales tienen una permeabilidad menor a la de otros capilares corporales, contribuyendo a reforzar la barrera, al dificultar el paso de células o sustancias de alto peso molecular al compartimiento intersticial (14).

En el hombre, bajo condiciones normales, existen mecanismos complejos y variados que previenen el contacto de estos antígenos espermáticos con la maquinaria inmune, evitando el desarrollo de una respuesta de rechazo, haciendo del túbulo seminífero un tejido inmunológicamente privilegiado. Söder (19) sugiere la existencia de un control paracrino inmunoregulatorio, llevado a cabo por sustancias denominadas protectoras, producidas por las células de Sertoli y de Leydig. Estas sustancias inmunosupresoras, son las citocinas antiinflamatorias como la interleucina-10 (IL-10), IL-13, IL-14 y el factor de transformación y crecimiento  $\beta$ , entre otras, que inhiben la actividad proinflamatoria y activante de algunas citocinas como el factor de crecimiento de las células  $T\alpha$  (TCGF $\alpha$ ), la activina, la  $\alpha 2$  macroglobulina y la hormona melanocito estimulante  $\beta$  (20).

Una vez estimulado el sistema inmune, los anticuerpos antiespermáticos producidos pueden encontrarse en el plasma sanguíneo o en el plasma seminal; en el plasma sanguíneo como resultado de una inmunización sistémica, debido a la extravasación

de los antígenos espermáticos a la circulación periférica mientras que en el plasma seminal, pueden deberse a dos causas diferentes: a la permeación o paso de inmunoglobulinas de origen sérico al compartimiento genital o a la producción local, en las glándulas anexas, por células plasmáticas locales (21-24).

Los hallazgos sobre anticuerpos antiespermáticos en plasma sanguíneo y semen varían. Girgis y col. (22) encontraron pacientes solo con anticuerpos antiespermáticos. En otros casos, se reportan anticuerpos séricos y seminales, donde los títulos son más elevados en suero que en plasma seminal (23). En este sentido, diversos investigadores atribuyen estos resultados a las diferentes técnicas utilizadas para la detección de anticuerpos antiespermáticos, los cuales se encuentran libres o sobre la superficie de los espermatozoides y sólo técnicas como los anticuerpos marcados o unidos a microesferas, han permitido su detección (25-29).

### ANTICUERPOS ANTIESPERMÁTICOS

Numerosos estudios experimentales y clínicos han corroborado la existencia de anticuerpos antiespermáticos (25, 30-36). La autoantigenicidad de los espermatozoides se debe a que ellos poseen características morfológicas y funcionales únicas en el organismo y aparecen por primera vez en la pubertad, cuando ya el sistema inmune ha concluido su etapa de reconocimiento de lo propio, siendo por consiguiente reconocibles como extraños por el propio sistema que los crea (37). Al respecto, diversos autores han demostrado la presencia de anticuerpos antiespermáticos en el 25% de las parejas con infertilidad idiopática (ESCA), que podrían afectar el proceso reproductivo interfiriendo con la movilidad, induciendo citotoxicidad espermática, dificultando la penetración del moco cervical, incrementando la fagocitosis espermática o interfi-

riendo con la capacitación y reacción acrosómica (21, 35, 38-41).

### ANTIGENICIDAD DE LOS ESPERMATOZOIDES

Los antígenos espermáticos son aquellas proteínas que se encuentran en la periferia o integradas a la membrana espermática. Dentro de los antígenos propios de la membrana, se ha señalado que algunos son comunes con otros antígenos presentes en otras células corporales, mientras que otros son exclusivos del espermatozoide, presentando variabilidad general y expresión heterogénea en las poblaciones de espermatozoides de un mismo eyaculado; en éstos, se han encontrado antígenos con funciones biológicas clave en el proceso de fertilización o pueden ser antígenos de revestimiento de las glándulas anexas que se adhieren al espermatozoide después de la eyaculación (26, 42-44). Sin embargo, su función específica sobre los espermatozoides no está completamente clara, aunque podrían estar involucrados en la maduración del espermatozoide, cumplir un rol protector contra la maquinaria inmunológica en el tracto reproductor femenino o poseer algún efecto inmunosupresor de la respuesta isoimmune (43, 45-47).

### INFLAMACIÓN, CITOCINAS Y FUNCIÓN TESTICULAR

Se han descrito numerosos mediadores autoerinos y paracrinicos, que proporcionan la integración necesaria para la comunicación entre diferentes tipos celulares en el testículo. Dentro de ellos se incluyen varias moléculas de bajo peso molecular como son las citocinas: interleucinas, factor de necrosis tumoral, interferón y quimosinas (48).

Las citocinas son proteínas monoméricas o multiméricas de aproximadamente 35 kD, producidas por las células hematopoyéticas

y su función principal es el control de la respuesta inmune e inflamatoria, mediante la regulación de la proliferación, diferenciación y actividad celular expresada vía receptores específicos ubicados en la superficie de las células blanco, actuando de forma endocrina; sin embargo, la producción y la acción de las citocinas no está restringido exclusivamente a los sistemas inmune y hematopoyética; aunque, se conoce el rol de varias citocinas en la regulación del tracto reproductivo masculino, particularmente en el testículo (49, 50).

A pesar del estado de privilegio inmunológico del testículo, él no está exento del sistema inmune del organismo, de hecho los macrófagos y los mastocitos se encuentran adyacentes a los vasos sanguíneos por debajo de la cápsula y como en muchos otros tejidos, los linfocitos T, tienen un relativo acceso libre al testículo. Pero, el testículo posee un eficiente drenaje linfático en los nódulos linfáticos regionales, por lo que la producción local de citocinas puede ejercer efectos a nivel testicular (50-54).

Por lo antes expuesto, es necesario conocer la relación de las citocinas, origen, papel anti-inflamatorio o pro-inflamatorio y los efectos sobre las células de Sertoli, germinales, de Leydig, células mioideas y los capilares.

#### a. La familia de interleucina-1 (IL-1)

La IL-1 posee dos isoformas, alfa y beta, con propiedades estructurales muy diferentes que se unen a los mismos receptores celulares y producen efectos similares (15,55). La IL-1 $\beta$  es sintetizada y secretada por monocitos y macrófagos mientras que la IL-1 $\alpha$  también puede ser secretada por monocitos y macrófagos pero generalmente permanece asociada a sus células productoras y se cree que actúa como un factor de crecimiento autoerino o como un mediador directo de la comunicación célula-célula (56-58).

En algunas fases de la espermatogénesis, la IL-1 es producida por las células de

Sertoli del adulto, por los cuerpos residuales y por las células germinales en maduración (59-63). Además, existen evidencias de que los espermatoцитos y las espermátidas también pueden producir IL-1  $\alpha$  (64). Numerosas investigaciones demuestran que el lipopolisacárido (LPS) bacteriano estimula a las células de Sertoli para que produzca y secrete IL-1, inhibiendo la acción de la FSH sobre la aromatasas (59, 61, 62, 65-67). Asimismo, se demostró la presencia de IL-1  $\alpha$  en el fluido intersticial, lo que indica que esta citocina es secretada dentro del compartimiento del tejido intersticial (54, 68).

También se ha tomado en cuenta un tercer miembro de la familia de la IL-1 como es el antagonista de la IL-1 (IL-1ra), proteína estructuralmente homóloga a la IL-1  $\alpha$  y a la IL-1  $\beta$  que se une al mismo receptor, pero sin transmitir alguna señal biológica (69). Por esta razón, la IL-1ra podría ser clasificada como antiinflamatoria. Zeyse y col. (70) encontraron que esta citocina es producida en células de Sertoli de ratón y que es estimulada por la FSH, LPS y la IL-1.

#### **b. IL-6**

A nivel testicular la IL-6 es producida en las células de Sertoli en respuesta a la acción de la FSH, la testosterona, neuropeptidos y los cuerpos residuales (61, 62, 71). Aún no existen suficientes evidencias acerca de la localización del receptor CD130 o co-receptores para la IL-6 en el testículo; no obstante, se conoce que la IL-6 posee varios efectos sobre los túbulos seminíferos, como son la estimulación de la producción de transferrina por las células de Sertoli y la inhibición de la síntesis de ADN en la fase meiótica de espermatoцитos pre-leptoténos (72-74). Diversos autores señalan que la IL-6 posee un importante rol autoerino en las células de Sertoli cuando existen procesos inflamatorios en el testículo (61, 62, 72, 75).

#### **c. Factor inhibidor de la leucemia**

El Factor inhibidor de la leucemia (LIF), es una citocina pleiotrópica expresada por múltiples tejidos, que comparten la subunidad del receptor CD130 común con la superfamilia de la IL-6. En este sentido, el receptor de LIF ha sido localizado en las células germinales primordiales, en las células somáticas y en las espermátidas elongadas del testículo (76,77). En células germinales primordiales, el LIF, en sinergia con el factor stem cell (SCF), promueve la supervivencia y previene la apoptosis de estas células (78, 79). Estudios previos muestran que el LIF incrementa la supervivencia de las células de Sertoli y de los gonocitos en ratas neonatales (80). Recientemente, se demostró que inhibe la esteroidogénesis en las células de Leydig (81, 82).

#### **d. Factor de necrosis tumoral $\alpha$**

El factor de necrosis de tumoral  $\alpha$  (TNF  $\alpha$ ) es producido por monocitos activados y por macrófagos. En el testículo, la expresión de TNF  $\alpha$  ha sido encontrada en espermatoцитos paquitenos, en espermátidas y en macrófagos activados del testículo (83-86). Al igual que la IL-1, el TNF  $\alpha$  inhibe la esteroidogénesis de las células de Leydig y su localización en las células germinales postmeióticas indica un posible rol en la espermatogénesis (87, 88). Al respecto, Pentikainen y col. (89) sugieren que el TNF  $\alpha$  podría tener un papel importante en el control de la espermatogénesis, inhibiendo la apoptosis de las células germinales mediante la regulación de los niveles del Ligando del FAS (FasL). En procesos patológicos, el TNF  $\alpha$  se ha visto implicado en el desarrollo de orquitis autoinmune (90).

#### **e. Molécula FasL (CD95L) y Fas (CD95)**

El ligando de FasL (CD95L), se expresa en linfocitos T activados, neutrófilos, epitelio ocular, tiroides, glándulas salivales,

endotelio y testículos (15). En cuanto al testículo, el CD95L es expresado en la superficie de las células de Sertoli y está implicado en el mantenimiento del privilegio inmune, a través de la supresión de células T activadas en el testículo (91). Por su parte, el Fas (CD95) interviene en la regulación de las células germinales muertas durante la toxicidad y disfunción testicular (92, 93). Riccioli y col. (94) señalan que la expresión del sistema Fas en el testículo está regulada por el TNF  $\alpha$  y por el gamma-interferón ( $\gamma$ -IFN).

#### **f. Factor inhibitorio de la migración de macrófagos**

El factor inhibitorio de la migración de macrófagos (MIF) posee una amplia distribución en los tejidos participando en la respuesta inflamatoria e inmune (95, 96). Sin embargo, se sabe muy poco sobre su mecanismo de acción, debido a que su receptor aun no ha sido identificado (97).

Meinhardt y col. (98) encontraron que el MIF se localiza en las células de Leydig, mientras que los macrófagos testiculares no mostraban su expresión. Los autores concluyen que en los testículos, las células somáticas son la fuente más importante del MIF. Se ha encontrado que el MIF reduce la secreción de inhibina por las células de Sertoli en los cultivos y provoca un aumento transitorio en los niveles de calcio en células peritubulares (98, 99). Estos datos indican que el MIF interviene en la regulación paracrina entre las células de los túbulos seminíferos y las células de Leydig.

#### **g. Factor estimulador de las colonias de fagocitos mononucleares y el factor estimulador de las colonias de granulocitos/macrófagos**

La expresión del Factor Estimulador de las Colonias de Fagocitos Mononucleares (CSF-1 o M-CSF) ha sido reportada en el testículo adulto (100) y en pruebas de labo-

ratorio con ratones homocigotos se observó una reducción de la fertilidad debido al mal funcionamiento de las células de Leydig causado por la mutación en el gen CSF-1. La reducción de la esteroidogénesis en dichos animales se asocia a varias alteraciones ultraestructurales caracterizadas por destrucción de la estructura de la membrana intracelular (101, 102). Sin embargo, en ratas con diabetes mellitus inducida, se demostró que la esteroidogénesis puede ser recuperada con el tratamiento de LH y FSH, evitando así la infertilidad por déficit hormonal debido a dichas alteraciones ultraestructurales (103).

El factor estimulador de las colonias de granulocitos/macrófagos (GM-CSF) es producido en cultivos de macrófagos testiculares y se ha reportado que sus receptores se encuentran en células germinales masculinas (104,105). Sin embargo, el papel de esta citocina en el testículo normal o patológico, aun no ha sido esclarecido (106).

#### **h. Factor de células madre**

En la espermatogénesis, el factor de células madre (FCM) se ha localizado unido a la membrana de las células de Sertoli e interactuando con el receptor c-kit en espermatogonias tipo A (107-110). Durante el desarrollo testicular el FCM juega un papel importante en la migración, adhesión, proliferación y supervivencia de células germinales y espermatogonias, actuando como un factor de sobrevivencia para las células de Leydig; por consiguiente, los defectos en la expresión del gen FCM/c-kit causan disfunción en el testículo de ratones y de humanos (99, 109, 111-115).

#### **i. Interferones**

Los interferones (IFN) se clasifican como tipo I alfa o beta (IFN  $\alpha$  IFN $\beta$ ) o tipo II gamma (IFN $\gamma$ ) y han sido encontrados en el testículo afectado por infecciones virales

que ocurren en las células de Sertoli y las células de Leydig (116,117). Los hallazgos de Orava y col. (118), Lin y col. (119), señalan que el IFN $\gamma$  inhibe la esteroidogénesis, mediante la inhibición de la expresión de la proteína StAR. Por su parte el IFN $\gamma$  ha sido implicado en el desarrollo de enfermedades autoinmunes, incluyendo la orquitis autoinmune (120).

#### **j. Factor de transformación y crecimiento $\beta$**

La familia del factor de transformación y crecimiento  $\beta$  (TGF  $\beta$ ) está integrada por las isoformas 1, 2, 3 que son ampliamente expresadas en las células de Sertoli, células peritubulares y células de Leydig en el testículo fetal e inmaduro y declina su producción en la etapa postpuberal (121-124), aunque en el testículo postpuberal, han sido localizadas en células germinales y en células somáticas (125-128). Sin embargo, no se ha precisado un papel específico en el testículo adulto.

#### **k. Activinas**

Las activinas son dímeros de las subunidades  $\beta$  de la molécula de inhibina, con una homología estructural con el TGF  $\beta$  y se ha demostrado que en el testículo estimula la síntesis de IL-1 e IL-6 (129,130). Las activinas son producidas por las células de Sertoli y células peritubulares (131), aunque algunas células germinales también expresan la subunidad  $\beta$  y podrían considerarse una fuente adicional (132). Lee y col. (133), demostraron que durante el desarrollo fetal, las células de Leydig son otra fuente de activinas. Igualmente, se ha encontrado que la activina estimula el desarrollo de las espermatogonias (134, 135), y regula la diferenciación de los espermatoцитos primarios (136). Esto indica que la activina está involucrada en la regulación local de la espermatogénesis durante el ciclo del epitelio seminífero, y podría jugar un papel impor-

tante en el mantenimiento del privilegio inmune del testículo.

### **DISCUSIÓN**

La barrera hematotesticular y las células inmunoprotectoras son componentes básicos esenciales en la protección de los espermatozoides contra los componentes del Sistema Inmune. Las alteraciones de dicha barrera involucran posiblemente la participación de interleucinas proinflamatorias y antiinflamatorias y de una serie de factores a los que se les podría atribuir la infertilidad. Considerando este hecho, es posible establecer mecanismos fisiopatológicos que permitan explicar la infertilidad de hombres con esterilidad sin causa aparente (ESCA) con alteraciones seminales o testiculares asociadas a procesos inflamatorios.

Por otra parte, el papel modulador de las células germinales como el espermatoцитo primario en la producción de IL-1 y FNT sobre el intersticio e incluso sobre la secreción del LIF por parte de espermátides elongadas, puede ayudar a explicar la tendencia a bacteriospermia, leucocitospermia o a alteraciones del líquido espermático en hombres con trastornos en la maduración espermatogénica, ya que en nuestra experiencia se ha encontrado asociación entre contajes espermáticos bajos con disfunción glandular, infección o inflamación testicular o de glándulas accesorias.

Por estas razones, debemos tomar en cuenta la evolución ontogénica de un órgano que nos permita tener una nueva visión paradigmática sobre la estrecha y compleja relación de los sistemas endocrino e inmune en las patologías reproductivas en el hombre y en la mujer. En la actualidad, en nuestro laboratorio se están realizando estudios para evaluar las citocinas en Hombres con ESCA, para confirmar la sospecha de que este tipo de infertilidad radica en la alteración inmunológica a nivel testicular,



hipótesis basada en los resultados obtenidos de los espermogramas, ya que existen algunos hallazgos patológicos aislados en forma casi exclusiva, sin evidencias de alteración en la evaluación clínica y andrológica.

Finalmente, nuestra investigación está enfocada a la evaluación del factor inmunológico (citocinas: interleucinas, factor de necrosis tumoral- $\alpha$ , entre otros) en hombres con ESCA, sin hallazgos clínicos patológicos, con espermocultivo negativo y normohormonales, con el propósito de establecer la fisiopatología de la ESCA en nuestra población.

#### REFERENCIAS

1. **Keck E, McElroy S, Strakowski S, West S, Sax K, Hawkins J, Bourne M, Haggard P.** 12-month outcome of patients with bipolar disorder following hospitalization for a manic or mixed episode. *Am J Psychiatry* 1998; 155:646-652.
2. **Huwe P, Diemer T, Ludwig M, Liu J, Schiefer HG, Weidner W.** Influence of different uropathogenic microorganisms on human sperm motility parameters in an *in vitro* experiment. *Andrologia* 1998; 30: 55-59.
3. **Silverberg K.** Evaluation of the couple with infertility in a managed care environment. *Clin Obs Gyn* 2004; 3:844-853.
4. **Iammarrone E, Balet R, Lower A, Gillot C, Grudzinskas J.** Male infertility Best. *Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* 2003; 17:211-229.
5. **Dunson DB, Baird DD, Colombo B.** Increased infertility with age in men and women. *Obstet Gynecol* 2004; 103:51-56.
6. **Frey K, Patel K.** Initial evaluation and management of infertility by the primary care physician. *Mayo Clin Proc* 2004; 79:1439-1443.
7. **Van Voorhis B, Syrop C.** Cost-effective treatment for the couple with infertility. *Clin Obstet Gynecol* 2000; 43:958-973.
8. **Randolph J.** Unexplained Infertility. *Clin Obstet Gynecol* 2000; 43:897-901.
9. **Brugo-Olmedo S, Chillik C, Kopelman S.** Definition and causes of infertility *Reprod. Biomed. Online*, 2001; 2:41-53.
10. **Baker H.** Management Of Immunological Infertility. *Servio Symposia Review* 1998; 1:107-109.
11. **Hatasaka H.** Immunologic factors in infertility. *Clinical Obstetrics & Gynecology* 2000; 43:830-843.
12. **Bohring C, Krause E, Habermann B, Krause W.** Isolation and identification of sperm membrane antigens recognized by antisperm antibodies, and their possible role in immunological infertility disease. *Mol Hum Reprod* 2001; 7:113-118.
13. **Turek P, Lipshultz L.** Immunologic infertility. *Urol Clin North Am* 1994; 21:447-468.
14. **Head JR, Neaves W, Billingham R.** Immune privilege in the testis. I. Basic parameters of allograft survival. *Transplantation* 1983; 36:423-431.
15. **Mora S, Corado J.** *Inmunología actual*. 1ra edición, Alfa Impresores. Valencia-Carabobo, 2003.
16. **Bremner WJ, Millar MR, Sharpe RM, Saunders PT.** Immunohistochemical localization of androgen receptors in the rat testis: Evidence for stage-dependent expression and regulation by androgens. *Endocrinology* 1994; 135:1227-1234.
17. **Jégou B.** The Sertoli Cell. In: De Kretser, D.M. (Ed.), *Bailliere's clinical endocrinology and metabolism. The Testis*. Bailliere Tindall, London, 1991. pp. 273-311.
18. **Holash J, Harik S, Perry G, Stewart P.** Barrier properties of testis microvessels. *Proc Natl Acad Sci* 1993; 99:11069-11073.
19. **Soder D.** Immune aspects of the testis. In: *Current topics in andrology*. Ed. Oahima. li And Burger H.G, 1993. P 92.
20. **Marshburn PB, Kuttteh WH.** The role of antisperm antibodies in infertility. *Fertil Steril* 1994; 62:799-811.
21. **Hendry WF.** The significance of antisperm antibodies: Measurement and Management. *Clin. Endocrinol* 1992; 36:219-221.
22. **Girgis S, Ekladiuos E, Iskander R, Eldakhly I, Girgis F.** Sperm antibodies in serum and semen in men with bilateral

- congenital absence of the vas deferents. *Arch Androl* 1983; 5:301-305.
23. **Radicioni A.** Immunoglobulins in seminal plasma. *Riv Immunol Inimunofarmacol* 1986; 6:71-74.
  24. **Paradowska A, Bohring C, Krause W.** Identification of mouse sperm membrane antigens by human antisperm antibodies as murine model of immunological infertility. *Androl* 2004; 363:129-132.
  25. **Mathur S, Baker E, Williamson H, Derrick F, Teaoe K, Fudenberq H.** Clinical significance of sperm antibodies in man fertility. *Fertil Steril* 1981; 36:486-495.
  26. **Bronson RA, Cooper G, Rosenfeld D.** Sperm antibodies their role in fertility. *Fertil Steril* 1984; 41:609-614.
  27. **Golomb J, Vardinon N, Homonnal Z, Braf Z, Yust L.** Demonstration of antispermatozoal antibodies in varicocele-related infertility with a enzyme-linked immunosorbent assay (Elisa). *Fertil Steril* 1986; 45:397-402.
  28. **Lenzia A.** The new test for sperm antibody detection. *Riv Immunol Immunofarmacol* 1986; 6:67-70.
  29. **Gilbert B, Wttkin S, Golstein M.** Correlation of sperm-bound immunoglobulins with impaired semen analyais in infertile men with varicocele. *Fertil Steril* 1989; 52: 469-473.
  30. **Alexander N, Fulgham D.** Antibodies to spermatozoa in male monkeys: mode of action. *Fertil Steril* 1978; 30:334-342.
  31. **Bronson R, Cooper G, Rosenfeld D.** Sperm-Specific isoantibodies and autoantibodies inhibit the binding of human sperm to the zona pellucida. *Fertil Steril* 1982; 38:724-729.
  32. **Menqe A, Medley N, Mangione C, Dietoich J.** The incidence and influence of antisperm antibodies in infertile human couples on sperm cervical mucus interactions and subsequent fertility. *Fertil Steril* 1982; 38:439-446.
  33. **Ahmad K, Natz R.** Effects of human antisperm antibodies on development of preimplantation embryos. *Arch Androl* 1992; 29:9-20.
  34. **Naz K.** Effects of antisperm antibodies on early cleavage of fertilized ova. *Biol Reprod* 1992; 46:130-139.
  35. **Snow K, Ball. G.** Characterization of human a sperm antigen and antisperm antibodies in infertile patients. *Fertil Steril* 1993; 58:1011-1019.
  36. **Dórr H, Bohring C, Krause W.** Are antisperm antibodies indeed sperm-specific?. *Andrology* 2005; 37(5):185-187.
  37. **Tozzini L.** Fisiopatología reproductiva en la mujer. En: *Esterilidad e Infertilidad Humanas. Segunda Edición.* Ed Med. Panam. S.A. Buenos Aires. 1992, p: 43.
  38. **Baker C, Gilson G, Vill M, Curet L.** Female circumcision: Obstetric Issues. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169:1616-1618.
  39. **Bahdoh R, Yamano S, Kamada M, Da1toh T, Aono Y.** Effect of sperm-immobilizing antibodies on the acrosome reaction of human spermatozoa. *Fertl Steril* 1992; 57: 387-392.
  40. **Margalioth E, Cooper Q, Taney F, Sholl G, Rosenfeld D.** Capacitated sperm cells react with different typea of antisperm antibodies than fresh ejaculated sperm. *Fertil Steril* 1999; 57:393-398.
  41. **Benoff S, Cooper Q, Hurley L, Mandel F, Rosenfeld D.** Antisperm antibody binding to human sperm inhibits capacitacion induced changes in the levels of plasma membrane sterols. *Am J Reprod Immunol* 1993; 30:113-130.
  42. **Fjallbrant B.** Localization of human male autoantibodies on spermatozoa. *Amer J Obstet Ginec* 1970; 108: 550-556.
  43. **Mancini R, Gutierrez O, Fernandez E.** Immunohistochemical location of antigens in human spermatozoa. *Fertil Steril* 1971; 22:475-481.
  44. **Boettcher B.** Inmunidad a los espermatozoides. *Obst Ginecol Clin Med* 1979; 118:385-402.
  45. **Dravland E, Josh M.** Sperm coating antigens secreted by the epididymis and seminal residues of the rat. *Biol Reprod* 1981; 25:649-658.
  46. **Saji F, Minagawa Y, Neqoro T, Nakamuro K, Tanizawa O.** A human sperm coating antigen isolated from sperm cell membrane. *Amer J Immunol Microbiol* 1985; 8:132-136.
  47. **Balercia G, Moretti S, Vignini A, Magagnini M, Mantero F, Boscaro M,**

- Ricciardo-Lamonica G, Mazzanti L. Role of nitric oxide concentrations on human sperm motility. *J Androl* 2004; 25:245-249.
48. Schlatt S, Meinhardt A, Nieschlag E. Paracrine regulation of cellular interactions in the testis: factors in search of a function. *Eur J Endocrinol* 1997; 137:107-117.
49. Vilcek J. The Cytokines: An Overview. In: Thomson, A. (Ed.), *The Cytokine Handbook*, Third Ed.. Academic Press, San Diego, 1998. pp. 1-20.
50. Hedger M, Meinhardt A. Local regulation of T cell numbers and lymphocyte-inhibiting activity in interstitial tissue of the adult rat testis. *J Reprod Immunol* 2000; 48:10-69.
51. Head J, Neaves W, Billingham R. Reconsideration of the lymphatic drainage of the rat testis. *Transplantation* 1983; 35:91-95.
52. Nistal M, Santamaria L, Paniagua R. Mast cells in the human testis and epididymis from birth to adulthood. *Acta Anat* 1984; 119:155-160.
53. Gaytan F, Carrera G, Pinilla L, Aguilar R, Bellido C. Mast cells in the testis, epididymis and accessory glands of the rat: effects of neonatal steroid treatment. *J Androl* 1989; 10:351-358.
54. Hedger M, Wang J, Lan H, Atkins C, Wreford N. Immunoregulatory activity in adult rat testicular interstitial fluid: relationship with intratesticular CD8(+) lymphocytes following treatment with ethane dimethane sulfonate and testosterone implants. *Biol Reprod* 1998; 58:935-942.
55. Dinarello C. Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood* 1996; 87:2095-2147.
56. Black R, Kronheim S, Cantrell M, Deeley M, March C, Prickett K, Wignall J, Conlon P, Cosman D, Hopp T. Generation of biologically active interleukin-1p by proteolytic cleavage of the inactive precursor. *J Biol Chem* 1988; 263:9437-9442.
57. Watanabe S, Yamasaki S, Tanae A, Hibi I. Ad hoc committee on androcrin users; Honna, Toshiro. Three cases of hepatocellular carcinoma among cyproterone users. *Lancet* 1994; 344:1567-1568.
58. Kobayashi T, Toshima M, Yaginuma Y, Ishidoya M, Suetake M, Takasaka T. Pathogenesis of attic retraction pocket and cholesteatoma as studied by computed tomography. *Am J Otol* 1994; 15:658-662.
59. Gérard N, Syed V, Bardin W, Genetet N, Jegou B. Sertoli cells are the site of interleukin-1 a synthesis in rat testis. *Mol Cell Endocrinol* 1991; 82:13-16.
60. Söder O, Syed V, Callard G, Toppari J, Pollanen P, Parvinen M, Froyso B, Ritzen E. Production and secretion of an interleukin-1-like factor is stage-dependent and correlates with spermatogonial DNA synthesis in the rat seminiferous epithelium. *Int J Androl* 1991; 14:223-231.
61. Syed V, Stephan J, Gerard N, Legrand A, Parvinen M, Bardin C, Jegou B. Residual bodies activate Sertoli cell interleukin-1a (IL-1a) release, which triggers IL-6 production by an autocrine mechanism, through the lipoxygenase pathway. *Endocrinology* 1995; 136:3070-3078.
62. Stephan J, Syed V, Jegou B. Regulation of Sertoli cell IL-1 and IL-6 production *in vitro*. *Mol Cell Endocrinol* 1997; 134: 109-118.
63. Syed V, Soder O, Arver S, Lindh M, Khan S, Ritzen E. Ontogeny and cellular origin of an interleukin-1-like factor in the reproductive tract of the male rat. *Int J Androl* 1988; 11:437-447.
64. Haugen T, Landmark B, Josefsen G, Hansson V, Hogset A. The mature form of interleukin-1 a is constitutively expressed in immature male germ cells from rat. *Mol Cell Endocrinol* 1994; 105:19-23.
65. Khan S, Nieschlag E. Interleukin-1 inhibits follicle-stimulating hormone-induced aromatase activity in immature rat sertoli cells *in vitro*. *Mol Cell Endocrinology* 1991; 75:1-7.
66. Hoeben E, Van Damme J, Put W, Swinnen J, Verhoeven G. Cytokines derived from activated human mononuclear cells markedly stimulate transferrin secretion by cultured Sertoli cells. *Endocrinology* 1996; 137:514-521.
67. Nehar D, Mauduit C, Boussouar F, Benahmed M. Interleukin 1p stimulates lactate dehydrogenase a expression and

- lactate production in cultured porcine Sertoli cells. *Biol Reprod* 1998; 59:1425-1432.
68. **Gustafsson K, Soder O, Pollanen P, Ritzen E.** Isolation and partial characterization of an interleukin-1-like factor from rat testis interstitial fluid. *J Reprod Immunol* 1988; 14:139-150.
  69. **Arend W.** Interleukin-1 receptor antagonist. *Adv Immunol* 1993; 54:167-227.
  70. **Zeyse D, Lunenfeld E, Beck M, Prinsloo L, Huleihel M.** Interleukin-1 receptor antagonist is produced by sertoli cells *in vitro*. *Endocrinology* 2000; 141:1521-1527.
  71. **Okuda Y, Sun X, Morris P.** Interleukin-6 (IL-6) mRNAs "expressed in Leydig and Sertoli cells are regulated by cytokines, gonadotropins and neuropeptides. *Endocrine J*, 1995; 2:617-624.
  72. **Boockfor F, Schwarz L.** Effects of interleukin-6, interleukin-2, and tumor necrosis factor alpha on transferrin release from Sertoli cells in culture. *Endocrinology* 1991; 129:256-262.
  73. **Hakovirta H, Syed V, Jegou B, Parvinen M.** Function of interleukin-6 as an inhibitor of meiotic DNA synthesis in the rat seminiferous epithelium. *Mol Cell Endocrinol*, 1995; 108:193-198.
  74. **Boockfor F, Wang D, Lin T, Nagpal M, Spangelo B.** Interleukin-6 secretion from rat Leydig cells in culture. *Endocrinology* 1994; 134:2150-2155.
  75. **Cudicini C, Lejeune H, Gomez E, Bosnians E, Ballet F, Saez J, Jegou B.** Human Leydig cells and Sertoli cells are producers of interleukins-1 and -6. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82:1426-1433.
  76. **Cheng L, Gearing D, White L, Compton D, Schooley K, Donovan P.** Role of leukemia inhibitory factor and its receptor in mouse primordial germ cell growth. *Development* 1994; 120:3145-3153.
  77. **Jenab S, Morris P.** Testicular leukemia inhibitory factor (LIF) and LIF receptor mediate phosphorylation of signal transducers and activators of transcription (stat)-3 and stat-1 and induce c-fos transcription and activator protein-1 activation in rat Sertoli but not germ cells. *Endocrinology* 1998; 139:1883-1890.
  78. **Matsui Y, Toksoz D, Nishikawa S, Nishikawa S, Williams D, Zsebo K, Hogan B.** Effect of steel factor and leukemia inhibitory factor on murine primordial germ cells in culture. *Nature* 1991; 353:750-753.
  79. **Pesce M, Farrace M, Piacentini M, Dolci S, De Felici M.** Stem cell factor and leukemia inhibitory factor promote primordial germ cell survival by suppressing programmed cell death (apoptosis). *Development* 1993; 118:1089-1094.
  80. **De Miguel M, De Boer-Brouwer M, Paniagua R, Van Den Hurk R, De Rooij D, Van Dissel-Emiliani F.** Leukemia inhibitory factor and ciliary neurotropic factor promote the survival of sertoli cells and gonocytes in a coculture system. *Endocrinology* 1996; 137:1885-1893.
  81. **Auernhammer C, Melmed S.** Leukemia-inhibitory factor-neuroimmune modulator of endocrine function. *Endocr Rev* 2000; 21:313-345.
  82. **Mauduit C, Goddard I, Besset V, Tabone E, Rey C, Gasnier F, Dacheux F, Benahmed M.** Leukemia inhibitory factor antagonizes gonadotropin-induced testosterone synthesis in cultured porcine leydig cells: sites of action. *Endocrinology* 2001; 142:2509-2520.
  83. **Xiong Y, Hales D.** Expression, regulation, and production of tumor necrosis factor- $\alpha$  in mouse testicular interstitial macrophages *in vitro*. *Endocrinology* 1993; 133:2568-2573.
  84. **Xiong Y, Hales D.** Immune-endocrine interactions in the mouse testis: cytokine-mediated inhibition of leydig cell steroidogenesis. *Endocrine J*. 1994; 2: 223-228.
  85. **Moore C, Hutson J.** Physiological relevance of tumor necrosis factor in mediating macrophage-leydig cell interactions. *Endocrinology* 1994; 134:63-69.
  86. **Sasson R, Winder N, Kees S, Amsterdam A.** Induction of apoptosis in granulosa cells by TNF alpha and its attenuation by glucocorticoids involve modulation of Bel-2. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 294:51-59.
  87. **Mealy K, Robinson B, Millette C, Majzoub J, Wilmore D.** The testicular effects of tu-

- mor necrosis factor. *Ann Surg* 1990; 211:470-475.
88. **Xiong Y, Hales D.** The role of tumor necrosis factor-alpha in the regulation of mouse Leydig cell steroidogenesis. *Endocrinology* 1993; 132:2438-2444.
89. **Pentikainen V, Erkkila K, Suomalainen L, Ojala M, Pentikainen M, Parvinen M, Dunkel L.** TNF-alpha down-regulates the fas ligand and inhibits germ cell apoptosis in the human testis. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:4480-4488.
90. **Yule T, Tung K.** Experimental autoimmune orchitis induced by testis and sperm antigen-specific t cell clones: an important pathogenic cytokine is tumor necrosis factor. *Endocrinology* 1993; 133:1098-1107.
91. **Bellgrau D, Gold D, Selawry H, Moore J, Franzusoff A, Duke R.** A role for CD95 ligand in preventing graft rejection. *Nature* 1995; 377:630-632.
92. **Lee J, Richburg J, Younkin S, Boekelheide K.** The fas system is a key regulator of germ cell apoptosis in the testis. *Endocrinology* 1997; 138:2081-2088.
93. **Lee J, Richburg J, Shipp E, Meistrich M, Boekelheide K.** The fas system, a regulator of testicular germ cell apoptosis, is differentially up-regulated in sertoli cell versus germ cell injury of the testis. *Endocrinology* 1999; 140:852-858.
94. **Riccioli A, Starace D, D'alessio A, Starace G, Padula F, De Cesaris P, Filippini A, Ziparo E.** TNF-alpha and IFN- $\alpha$  regulate expression and function of the fas system in the seminiferous epithelium. *J Immunol* 2000; 165:743-749.
95. **Bacher M, Meinhardt A, Lan H, Mu W, Metz C, Chesney J, Calandra T, Gemsa D, Donnelly T, Atkins R, Bucala R.** M1f expression in experimentally-induced endotoxemia. *Am J Pathol* 1997; 150:235-246.
96. **Nishihira J.** Novel pathophysiological aspects of macrophage migration inhibitory factor. *Int J Mol Med* 1998; 2:17-28.
97. **Donnelly S, Bucala R.** Macrophage migration inhibitory factor: a regulator of glucocorticoid activity with a critical role in inflammatory disease. *Mol Med Today* 1997; 3:502-507.
98. **Meinhardt A, Bacher M, McFarlane J, Metz C, Seitz J, Hedger M, De Kretser D, Bucala R.** The macrophage migration inhibitory factor (MIF) production by Leydig cells: evidence for a role in regulation of testicular function. *Endocrinology* 1996; 137:5090-5095.
99. **Wennemuth G, Aumiiller G, Bacher M, Meinhardt A.** Macrophage migration inhibitory factor-induced  $Ca^{2+}$  response in rat testicular peritubular. *Cells Biol Reprod* 2000; 62:1632-1639.
100. **Bartocci A, Pollard J, Stanley E.** Regulation of colony stimulating factor 1 during pregnancy. *J Exp Med* 1986; 164:956-961.
101. **Cohen P, Chisholm O, Arceci R, Stanley E, Pollard J.** Absence of colony-stimulating factor-1 in osteopetrotic (*csfm<sup>op</sup>lcsfm<sup>op</sup>*) mice results in male fertility-defects. *Biol Reprod* 1996; 55:310-317.
102. **Pollard J, Dominguez M, Mocci S, Cohen P, Stanley E.** Effect of the colony-stimulating factor-1 null mutation, osteopetrotic (*csfm<sup>op</sup>*), on the distribution of macrophages in the male mouse reproductive tract. *Biol Reprod* 1997; 56:1290-1300.
103. **Rodríguez M, Vivas A.** Localización del daño ocasionado por la diabetes mellitus en el eje hipotálamo-hipofisario-gonadal en ratas con diabetes inducida. *Rev Facultad de Farmacia* 2003; 45:32-37.
104. **Kern S, Robertson S, Mau V, Maddocks S.** Cytokine secretion by macrophages in the rat testis. *Biol Reprod* 1995; 53:1407-1416.
105. **Zambrano A, Noli C, Rauch M, Werner E, Brito M, Amthauer R, Slebe R, Vera J, Concha H.** Expression of gm-csf receptors in male germ cells and their role in signaling for increased glucose and vitamin c transport. *J Cell Biochem* 2001; 80:625-634.
106. **Stanley E, Lieschke G, Grail D, Metcalf D, Hodgson G, Gall J, Maher D, Ceben J, Sinickas V, Dunn A.** Granulocyte/macrophage colony-stimulating factor-deficient mice show no major perturbations of hematopoiesis but develop a characteristic pulmonary pathology. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994; 91:5592-5596.
107. **Rossi P, Albanesi C, Grimaldi P, Geremia R.** Expression of the mrna for the ligand of

- c-kit in mouse sertoli cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 176:910-914.
108. **Besmer P, Manova K, Duttlinger R, Huang E, Packer A, Gyssler C, Bachvarova R.** The kit-ligand (steel factor) and its receptor c-kit/w: pleiotropic roles in gametogenesis and melanogenesis. *Development* 1993; 118:125-137.
109. **Loveland K, Schlatt S.** Stem cell factor and c-kit in the mammalian testis: lessons originating from mother nature's gene knockouts. *J Endocrinol* 1997; 153:337-344.
110. **Mauduit C, Hamamah S, Benahmed M.** Stem cell factor/c-kit system in spermatogenesis. *Hum Reprod* 1999; 5: 535-545.
111. **Flanagan J, Chan D, Leder P.** Transmembrane form of the kit ligand growth factor is determined by alternative splicing and is missing in the *sid* mutant. *Cell* 1991; 64:1025-1035.
112. **Packer A, Besmer P, Bachvarova R.** Kit ligand mediates survival of type a spermatogonia and dividing spermatocytes in postnatal mouse testes. *Mol Reprod Dev* 1995; 42:303-310.
113. **Feng H, Sandlow J, Sparks A, Sandra A, Zheng L.** Decreased expression of the c-kit receptor is associated with increased apoptosis in subfertile human testes. *Fertil Steril* 1999; 71:85-89.
114. **Rossi P, Sette C, Dolci S, Geremia R.** Role of c-kit in mammalian spermatogenesis. *J Endocrinol Invest* 2000; 23:609-615.
115. **Yan W, Kero J, Huhtaniemi I, Toppari J.** Stem cell factor functions as a survival factor for mature leydig cells and a growth factor for precursor leydig cells after ethylene dimethane sulfonate treatment: implication of a role of the stem cell factor/c-kit system in leydig cell development. *Dev Biol* 2000; 227:169-182.
116. **Dejueq N, Chousterman S, Jegou B.** The testicular antiviral defense system: localization, expression, and regulation of 2'5' oligoadenylate synthetase, double-stranded rna-activated protein kinase, and mx proteins in the rat seminiferous tubule. *J Cell Biol* 1997; 139:865-873.
117. **Dejueq N, Lienard M, Guillaume E, Dorval I, Jegou B.** Expression of interferons- $\alpha$  and  $\gamma$  in testicular interstitial tissue and spermatogonia of the rat. *Endocrinology* 1998; 139:3081-3087.
118. **Orava M, Tell K, Vihko R.** Human leukocyte interferon inhibits human chorionic gonadotropin stimulated testosterone production by porcine Leydig cells in culture. *Biochem Biophys Res Commun* 1985; 127:809-815.
119. **Lin T, Hu J, Wang D, Stocco D.** Interferon- $\gamma$  inhibits the steroidogenic acute regulatory protein messenger ribonucleic acid expression and protein levels in primary cultures of rat Leydig cells. *Endocrinology* 1998; 139:2217-2222.
120. **Itoh M, Yano A, Xie Q, Iwahashi K, Takeuchi Y, Meroni P, Nicoletti F.** Essential pathogenic role for endogenous interferon-gamma (TFN- $\gamma$ ) during disease onset phase of murine experimental autoimmune orchitis. *In vivo* studies. *Clin Exp Immunol* 1998; 111:513-520.
121. **Khan S, Teerds K, Dorrington J.** Growth factor requirements for DNA synthesis by Leydig cells from the immature rat. *Biol Reprod* 1992; 46:335-341.
122. **Mullaney B, Skinner M.** Transforming growth factor-p (p1, p2, and p3) gene expression and action during pubertal development of the seminiferous tubule: potential role at the onset of spermatogenesis. *Mol Endocrinol* 1993; 7:67-76.
123. **Avallet O, Vigier M, Leduque P, Dubois P, Saez J.** Expression and regulation of transforming growth factor-p1 messenger ribonucleic acid and protein in cultured porcine Leydig and Sertoli cells. *Endocrinology* 1994; 134:2079-2087.
124. **Honrad N, Koseki H, Akasaka T, Nakayama T, Taniguchi M, Serizawa I, Akahori H, Osawa M, Mikayama T.** Deficiency of the macrophage migration inhibitory factor gene has no significant effect on endotoxaemia. *Immunology* 2000; 100:84-90.
125. **Teerds K, Dorrington J.** Localization of transforming growth factor *fi* and  $p_2$  during testicular development in the rat. *Biol Reprod* 1993; 48:40-45.

126. **Le Magueresse-Battistoni B, Morera A, Goddard I, Benahmed M.** Expression of mRNAs for transforming growth factor- $\beta$  receptors in the rat testis. *Endocrinology* 1995; 136:2788-2791.
127. **Caussanel V, Tabone E, Hendrick J, Dacheux F, Benahmed M.** Cellular distribution of transforming growth factor  $\beta$ 1, 2 and 3 and their types I and II receptors during postnatal development and spermatogenesis in the boar testis. *Biol Reprod* 1997; 56:357-367.
128. **Goddard I, Bouras M, Keramidas M, Hendrick J, Feige J, Benahmed M.** Transforming growth factor- $\beta$  receptor types I and II in cultured porcine Leydig cells: expression and hormonal regulation. *Endocrinology* 2000; 141:2068-2074.
129. **de Kretser D, Loveland K, Meehan T, O'bryan M, Phillips D, Wreford N.** Inhibins, activins and follistatin: actions on the testis. *Mol Cell Endocrinol* 2001; 180: 87-92.
130. **Ethier J, Findlay J.** Roles of activin and its signal transduction mechanisms in reproductive tissues. *Reproduction* 2001; 121: 667-675.
131. **de Winter J, Vanderstichele H, Timmerman M, Blok L, Themmen A, de Jong F.** Activin is produced by rat Sertoli cells in-vitro and can act as an autocrine regulator of Sertoli cell function. *Endocrinology* 1993; 132:975-982.
132. **de Winter J, Hoogerbrugge J, Klaij I, Grootegeod J, de Jong F.** Activin receptor mRNA expression in the rat testicular cell types. *Mol Cell Endocrinol* 1992; 83:1-8.
133. **Lee W, Mason A, Schwall R, Szonyi E, Mather J.** Secretion of activin by interstitial cells in the testis. *Science* 1989; 243:396-398.
134. **Mather J, Attie K, Woodruff T, Rice G, Phillips D.** Activin stimulates spermatogonia! proliferation in germ-sertoli cell co-cultures from immature rat testis. *Endocrinology* 1990; 127:3206-3214.
135. **Hakovirta H, Kaipia A, Soder O, Parvinen M.** Effects Of Activin-A, Inhibin-A, and Transforming Growth Factor- $\beta$ 1 on stage-specific deoxyribonucleic acid synthesis during rat seminiferous epithelial cycle. *Endocrinology* 1993; 133: 1664-1668.
136. **Meinhardt A, Mcfarlane J, Seitz J, De Kretser D.** Activin maintains the condensed type of mitochondria in germ cells. *Mol. Cell. Endocrinol* 2000; 25:111-117.