



HAL
open science

Etude in vitro des interactions entre les cellules de sertoli et les cellules germinales du rat

B. Le Magueresse, Florence Le Gac, Maurice Loir, B. Jégou

► **To cite this version:**

B. Le Magueresse, Florence Le Gac, Maurice Loir, B. Jégou. Etude in vitro des interactions entre les cellules de sertoli et les cellules germinales du rat. A la recherche du pouvoir fécondant du sperme, Fondazione per Gli Studi Sulla Riproduzione Umana, 196 p., 1988. hal-02858331

HAL Id: hal-02858331

<https://hal.inrae.fr/hal-02858331>

Submitted on 8 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

ETUDE *IN VITRO* DES INTERACTIONS ENTRE LES CELLULES DE SERTOLI ET LES CELLULES GERMINALES DU RAT

B. LE MAGUERESSE*, F. LE GAC**, M. LOIR**, B. JÉGOU*

Introduction

En raison de son rôle dans l'architecture de l'épithélium séminifère, dans la constitution d'un « microenvironnement » favorable à la méiose et à la spermiogenèse et parce qu'elle est le relais cellulaire à l'action de FSH et de la testostérone sur les cellules germinales, la cellule de Sertoli apparaît comme la cellule clef dans le contrôle local de la spermatogenèse. (Voir la revue de RITZÉN et al., 1981). Ce contrôle s'exerce notamment par la sécrétion de facteurs inhibiteurs et activateurs de la méiose (BYSKOV et SAXEN, 1976), de l'activateur du plasminogène (LACROIX et al., 1977), d'un facteur mitogène (FEIG et al., 1980), du lactate et du pyruvate (JUTTE et al., 1982; LE GAC et al., 1983), du fluide testiculaire (JÉGOU et al., 1982, 1983). Cependant, des études récentes suggèrent indirectement que l'activité des cellules de Sertoli peut en retour subir l'influence des cellules germinales. Ainsi, PARVINEN (1982) montre une modulation de l'activité sertolienne en fonction des stades d'association de l'épithélium séminifère. D'autre part, le groupe de KRETZER (RICH et de KRETZER, 1979; KERR et al., 1979; RISBRIDGER et al., 1981 a et b; JÉGOU et al., 1984) observe que tout traitement détruisant les cellules germinales (irradiation, déficience en vitamine D, cryptorchidie, ligature des canaux efférents, chauffage local des testicules), entraîne une décroissance de la fonction sécrétoire sertolienne. De plus STEFANINI et al. (1980) notent que l'élimination des cellules germinales, contaminant une culture primaire de cellules de Sertoli, par un traitement hypotonique, abaisse la production de l'Androgen-Binding Protein (ABP), protéine spécifique sertolienne. Enfin, WELSCH et TREISSMAN (1984) suggèrent que des préparations membranaires de spermatoocytes pachytène stimulent l'adénylate cyclase sertolienne.

A la suite de ces travaux, nous avons cherché à mettre en évidence, par

* Biologie de la Reproduction, L.A. C.N.R.S. N° 256, Campus de Beaulieu, 35042 Rennes Cedex, France.

** Physiologie des Poissons, I.N.R.A., Campus de Beaulieu, 35042 Rennes Cedex, France.

une approche directe, l'influence des différentes populations germinales et des corps résiduels sur les cellules de Sertoli en culture.

Matériel et méthodes

Préparation des différents types cellulaires

Isolement des cellules de Sertoli: les cellules de Sertoli sont isolées à partir de testicules de rats Sprague-Dawley de 20 jours, par un traitement enzymatique séquentiel à la trypsine puis à la collagénase, selon la méthode de DORRINGTON et al. (1975).

Préparation des cellules germinales: l'isolement, puis l'enrichissement des cellules germinales se font à partir de testicules de rats Sprague-Dawley adultes, selon les techniques de MEISTRICH et al. (1981).

Une suspension brute de cellules germinales est obtenue par trypsination, elle est ensuite séparée en 3 populations enrichies (spermatocytes pachytène, spermatides rondes, corps résiduels) par élutriation centrifuge à l'aide d'un rotor Beckmann JE-6. Les corps résiduels (C.R.) sont la partie cytoplasmatique des spermatides âgées qui se détache de ces cellules lors de la spermiation. Ils sont ensuite phagocytés par les cellules de Sertoli (KERR et de KRETSER, 1975). La pureté des populations est estimée à 80-85% pour les spermatocytes et de 75 à 80% pour les spermatides rondes et les corps résiduels. La viabilité cellulaire, testée à l'érythrosine, est comprise entre 90 et 95%.

Préparation des cellules épithéliales (LEC): les cellules épithéliales utilisées pour les cocultures proviennent d'une lignée obtenue à partir de foie de rat. Cette lignée qui n'exprime pas de fonctions hépatocytaires, est entretenue à l'I.N.S.E.R.M. de Rennes et nous a été aimablement fournie par le Dr. C. GUGUEN-GUILLOUZO.

Cultures cellulaires

Culture primaire de cellules de Sertoli

Les cellules de Sertoli sont distribuées dans des chambres de culture (NUNC, diamètre 35 mm) à raison de 2 ml par chambre, soit 10^6 cellules de Sertoli dans du milieu de culture. Les cultures sont incubées à 32° C dans une atmosphère humidifiée contenant 50% CO₂ et 95% d'air. Les cellules subissent une préincubation de 48 heures (J₀-J₂) dans du milieu de base d'Eagle (Gibco), supplémenté en Hepes (25 mM), en acides aminés non essentiels (1%), en glutamine (0,3 g/litre), en antibiotiques-antimycotiques (1%) et en sérum de veau foetal (SVF ; 10% ; Gibco). Le traitement hypotonique est réalisé au terme de la préincubation selon la méthode décrite par STEFANINI et al. (1970): les cultures sont incubées pendant 2 min en présence d'une solution de Tris-HCl 20 mM à pH 7,4. Ce traitement est suivi de deux rinçages par du milieu de culture et les boîtes sont remises à

incuber à 32° C dans 1 ml de milieu de culture. La stimulation par FSH (NIH-FSH-S15) est effectuée, soit directement à l'issue de la préincubation, soit 4 heures après le traitement hypotonique.

Cocultures cellules de Sertoli-cellules germinales

A l'issue de la préincubation ou 4 heures après le traitement hypotonique, les milieux sont changés et les cellules de Sertoli rincées par du milieu neuf sans SVF. Puis, 1 ml d'une suspension de cellules germinales brutes ou éluées de concentration définie et contenant ou non FSH, est ajouté par chambre de culture. Les cocultures sont remises à incuber à 32° C. Les milieux sont ensuite renouvelés toutes les 48 heures.

Cocultures cellules de Sertoli-LEC

Après 24 heures de préincubation, les milieux sont remplacés par 1 ml d'une suspension de LEC (1.10^6 cellules) dans du milieu enrichi en SVF (10%) et la préincubation se poursuit encore 24 heures. Au terme des 48 heures, les milieux sont changés, les cultures rincées par du milieu neuf et 1 ml de milieu contenant ou non FSH est ajouté. Les cocultures sont alors remises à incuber à 32° C et les milieux sont renouvelés toutes les 48 heures. Les exigences particulières des LEC en SVF nous ont amenés, lors des études comparatives sur l'influence des cellules germinales et des LEC, à réaliser les cocultures cellules de Sertoli-cellules germinales dans les mêmes conditions que les cocultures cellules de Sertoli-LEC.

Techniques cytologiques

Microscopie photonique

En fin de culture et une fois les milieux prélevés, les cellules sont colorées au May-Grünwald-Giemsa.

Microscopie à balayage

Les préparations de cellules isolées et de cellules en culture sont fixées à la glutaraldéhyde (2,5%) puis au tétroxyde d'osmium (1%), enfin déshydratées à l'alcool (cellules en cultures), ou à l'acétone (cellules isolées). Les cellules en culture subissent une déshydratation par la méthode du point critique tandis que les cellules isolées sont séchées à l'air. Les préparations sont alors recouvertes d'or par évaporation avant d'être observées.

Microscopie électronique

Les cellules en culture sont fixées à la glutaraldéhyde (2,5%) puis au tétroxyde d'osmium (1%) avant d'être déshydratées à l'alcool et incluses dans l'épon. Des coupes fines sont réalisées, puis colorées à l'acétate d'uranyle et au citrate de plomb avant d'être observées.

Dosage de l'androgen-binding-protéin (ABP)

L'ABP contenue dans les milieux de culture de Sertoli et dans les milieux de coculture est dosée par dialyse à l'équilibre (FRITZ et al., 1976) et par électrophorèse à l'équilibre sur gel de polyacrylamide (RITZÉN et al., 1974). A l'aide de ces techniques, nous avons aussi vérifié que les cellules germinales et les LEC ne produisaient pas de protéine de liaison des androgènes.

Résultats

Influence du traitement hypotonique sur les cellules de Sertoli

Le traitement d'une culture de cellules de Sertoli par un milieu hypotonique permet de réduire le nombre des cellules germinales contaminantes. Après 4 jours de culture, la contamination n'est plus que de 5% dans ces conditions, alors qu'elle atteint 15% chez les contrôles (Pl. I A). Immédiatement après le traitement, de très nombreuses vacuoles apparaissent, en microscopie photonique, dans le cytoplasme des cellules de Sertoli. Ces vacuoles régressent ensuite en nombre, mais restent visibles en microscopie

Figure 1

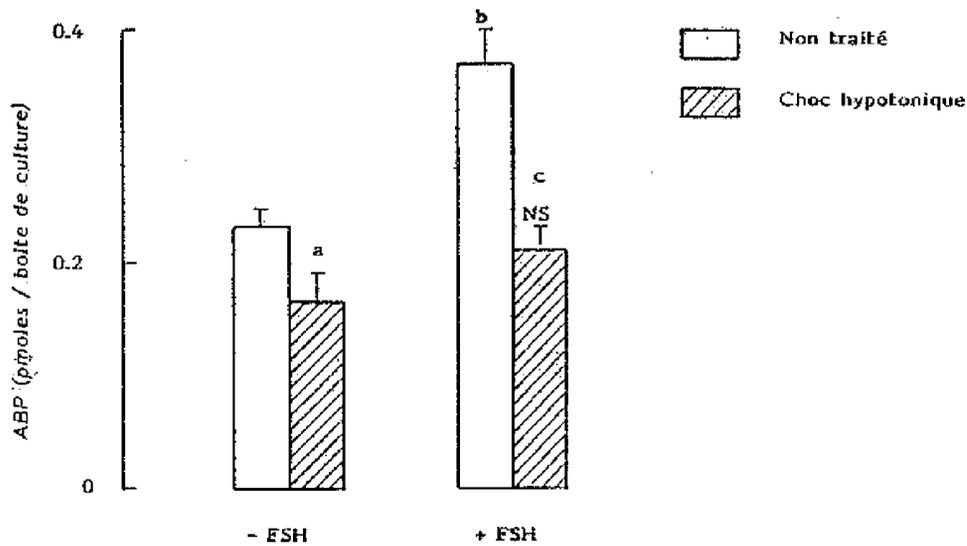
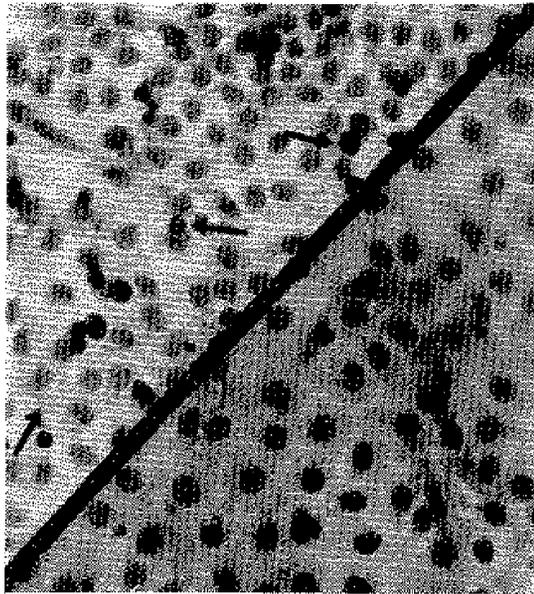


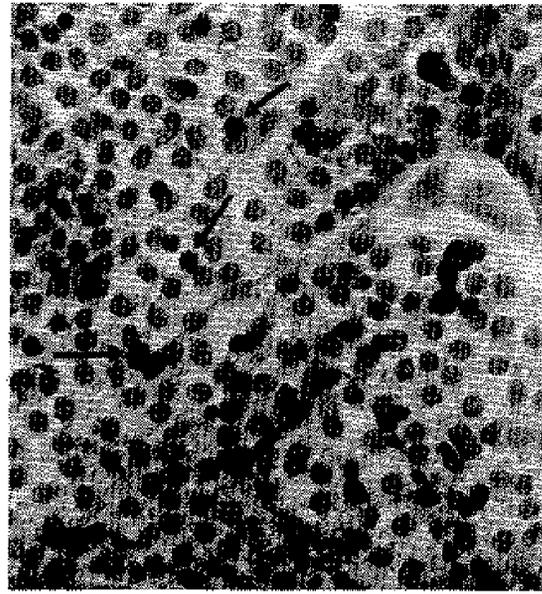
Figure 1

électronique 2 jours après le traitement (Pl. II A-B). Le traitement hypotonique entraîne aussi une baisse de la production d'ABP de 25%, lorsque les cellules de Sertoli sont cultivées en l'absence de FSH et de 50% en présence de cette hormone (Fig. 1). Dans ce dernier cas, les cellules ne sont plus stimulables par FSH.

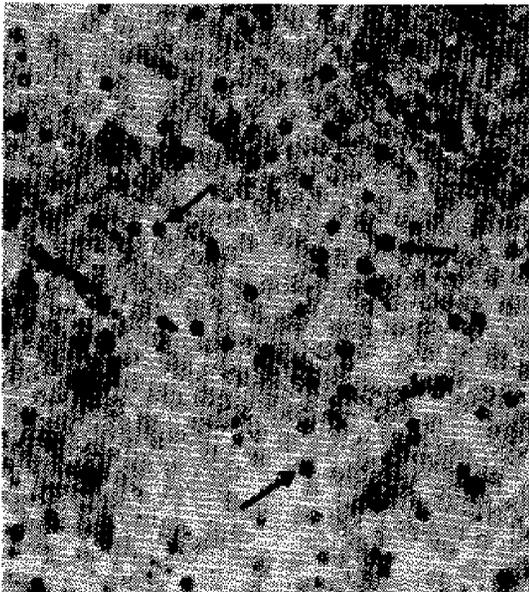
Planche I - Culture de cellules de Sertoli et cocultures cellules de Sertoli-cellules germinales (J4 de culture) en microscopie photonique après coloration au May-Grünwald. (x 300)



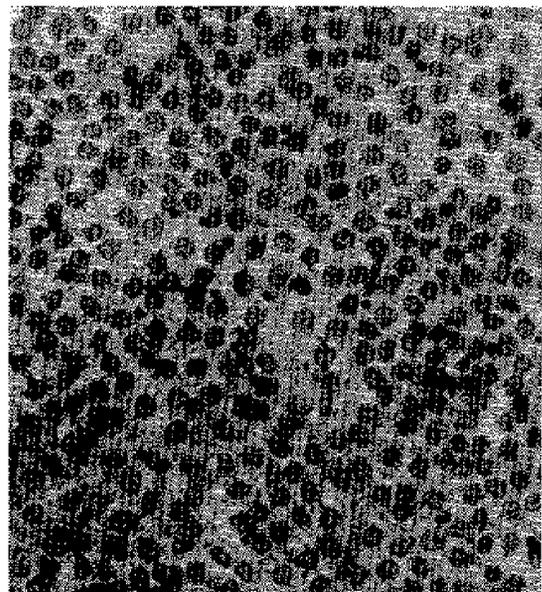
A



B



C



D

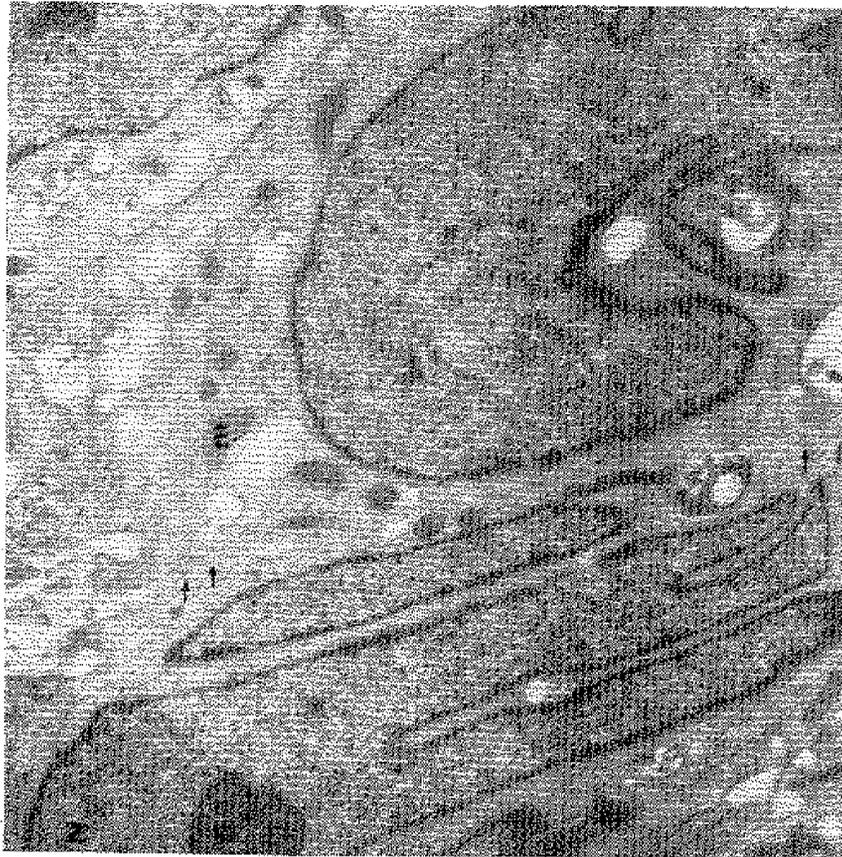
A: Cellules de Sertoli. A1: sans traitement hypotonique; → cellules germinales.
A2: après traitement.

B: Coculture cellules de Sertoli-spermatocytes pachytène.

C: Coculture cellules de Sertoli-spermatides rondes.

D: Coculture cellules de Sertoli-corps résiduels.

Planche II - Ultrastructure de cellules de Sertoli (J4 de culture) avec ou sans traitement hypotonique. (x 4 500)



A : Non traitée

Noyau (N)

Nucléole (n)

Jonctions entre cellules

(→)

mitochondries (m)



B : Choc hypotonique

vacuoles (V)

Jonctions entre cellules

(→)

Lipides (L)

Influence d'une préparation brute de cellules germinales sur la production d'ABP

L'addition d'une préparation brute de cellules germinales à une culture de cellules de Sertoli entraîne une stimulation significative de la production d'ABP en absence de FSH ($P < 0,05$ pour 3 ou $6 \cdot 10^6$ cellules ajoutées) comme en présence de cette hormone ($P < 0,05$ pour $3 \cdot 10^6$ cellules ajoutées) (Fig. 2).

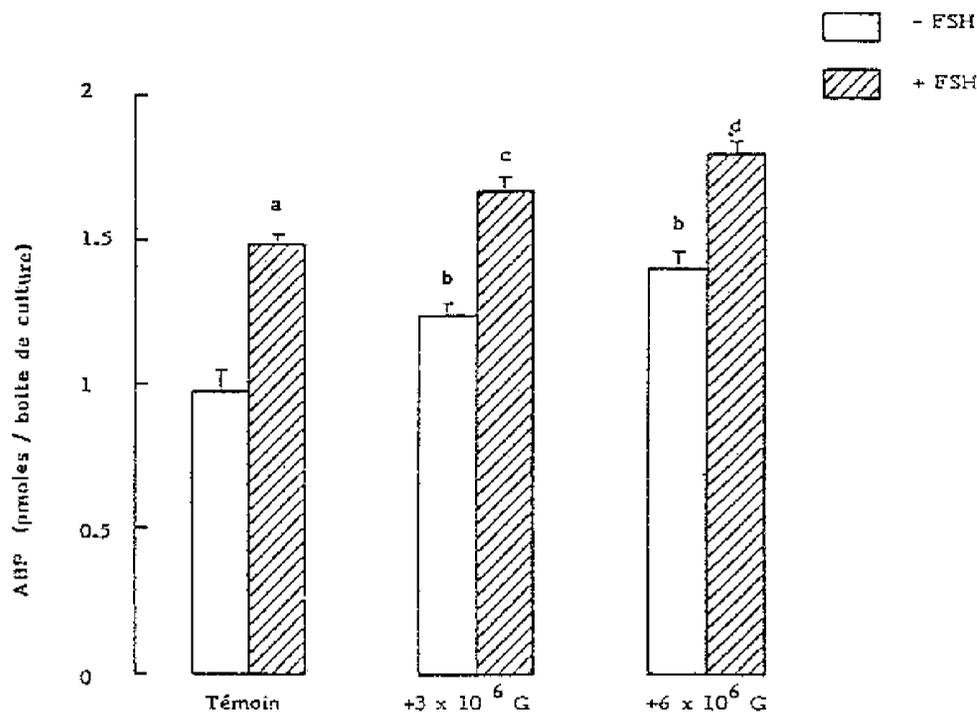


Figure 2

Aspects cytologiques des cocultures cellules de Sertoli-populations germinales éutriées

Les cellules de Sertoli ainsi que les 3 populations germinales éutriées sont représentées sur la Planche III. Nos images de coculture en microscopie photonique (Pl. I B-C-D) montrent que les spermatocytes, tout comme les spermatides ou les C.R., peuvent adhérer dans des proportions variables à la monocouche sertolienne. Ainsi, lorsque $4 \cdot 10^6$ de spermatocytes de C.R. ou de spermatides, sont ajoutés, nous observons une adhésion des cellules de 90%, 80% et 40% respectivement.

Influence des populations germinales éutriées et des LEC sur la production d'ABP

L'addition de spermatocytes pachytène aux cultures de cellules de Sertoli entraîne une stimulation dose-dépendante de la production d'ABP en absence, comme en présence de FSH (Fig. 3 et 4). L'ajout de $1.25 \cdot 10^6$ sper-

matocytes élève d'environ 20% les niveaux d'ABP ($P < 0,01$). Au-delà de cette concentration, la stimulation est encore accrue ($P < 0,001$) et la production d'ABP est doublée en présence de $10 \cdot 10^6$ spermatoocytes ajoutés par culture (Fig. 3).

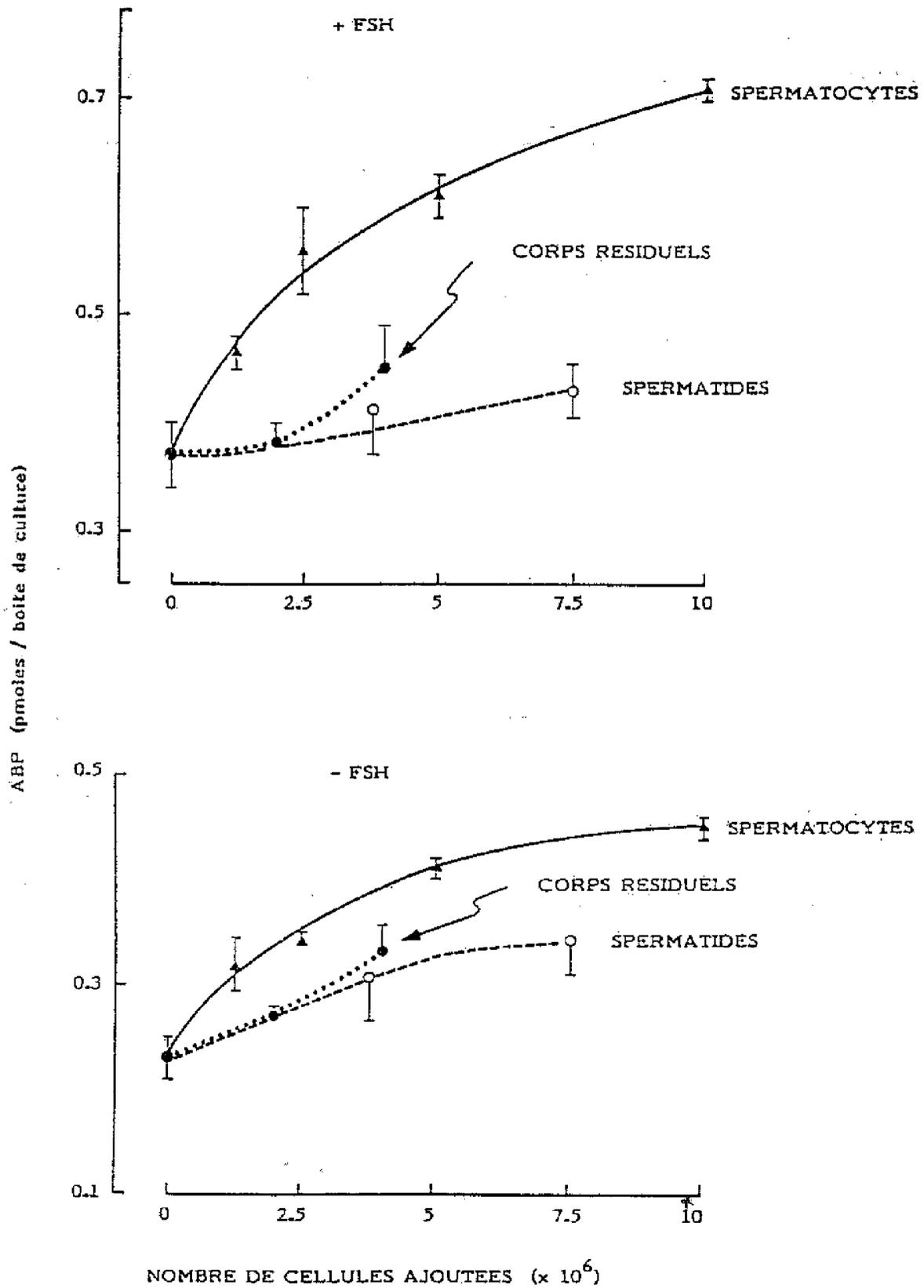
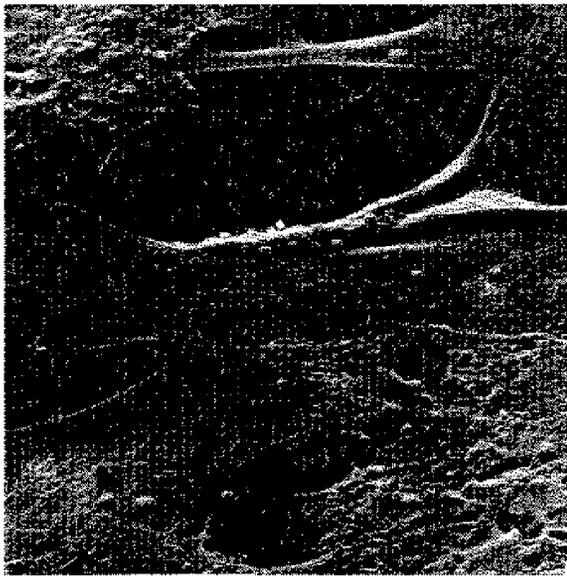
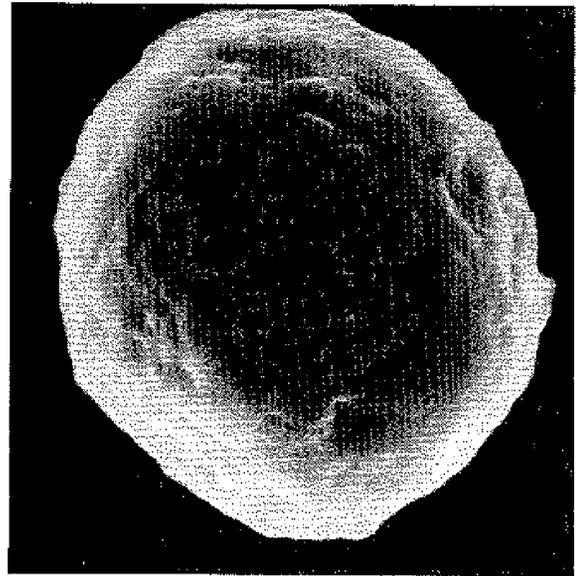


Figure 3

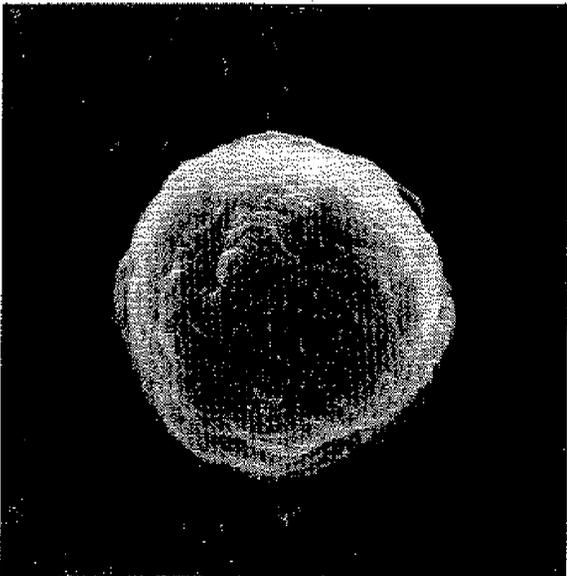
Planche III - Cellules de Sertoli (J4 de culture) et cellules germinales élutriées en microscopie à balayage.



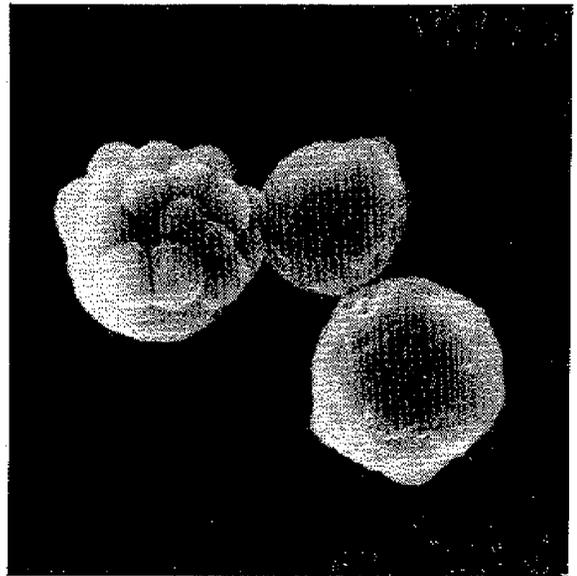
A



B



C



D

A: Cellules de Sertoli (S) en monocouche: noyau (N); prolongements cytoplasmiques (→)
(x 1 000)

B: Spermatocytes pachytènes. (x 5 000)

C: Spermatides rondes. (x 5 000)

D: Corps résiduels. (x 5 000)

En l'absence de FSH, l'addition des spermatozoïdes stimule aussi la production d'ABP (Fig. 3 et 4): elle est augmentée de 33% pour $3.75.10^6$ spermatozoïdes ajoutés ($P < 0,05$) et de 48% pour $7.5.10^6$ ($P < 0,01$) (Fig. 3). Par contre, selon les expériences, en présence de FSH, les spermatozoïdes élèvent (Fig. 4) ou n'élèvent pas (Fig. 3) les niveaux d'ABP.

Les corps résiduels stimulent la production d'ABP de 20% pour 2.10^6 C.R. ajoutés ($P < 0,05$) et de 43% pour 4.10^6 ($P < 0,01$) (Fig. 3). En présence de FSH, l'ajout de C.R. est sans effet sur cette production (Fig. 3 et 4).

Enfin, en coculture, les cellules épithéliales élèvent les productions d'ABP, basale et stimulée, à un niveau comparable à celui observé lors des cocultures en présence de spermatozoïdes ou de C.R. (Fig. 4).

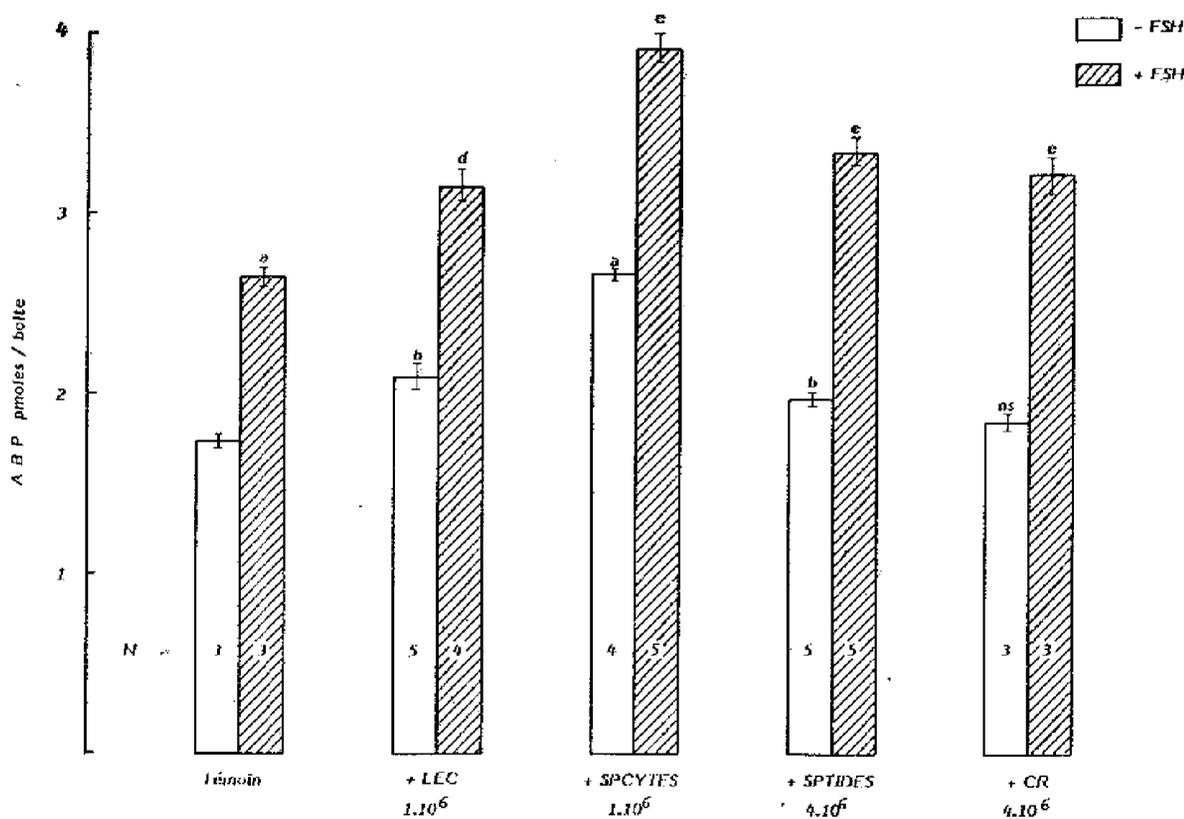


Figure 4

Influence du traitement hypotonique sur la production d'ABP par les cellules de Sertoli en coculture avec les spermatocytes pachytène

Les spermatocytes pachytène constituant un contaminant majeur des cultures de cellules de Sertoli, nous avons testé l'effet de l'ajout de spermatozoïdes à une culture primaire traitée. Nos résultats (Fig. 5) confirment ceux de la Figure 1 et montrent que le traitement hypotonique altère significativement ($P < 0,001$) les productions d'ABP basale (Témoin Hypo.) et stimulée (Hypo. + FSH). Ils montrent aussi que l'ajout de 5 ou de 10.10^6 spermatozoïdes aux cultures traitées, sans FSH (Témoin Hypo.) restaure la

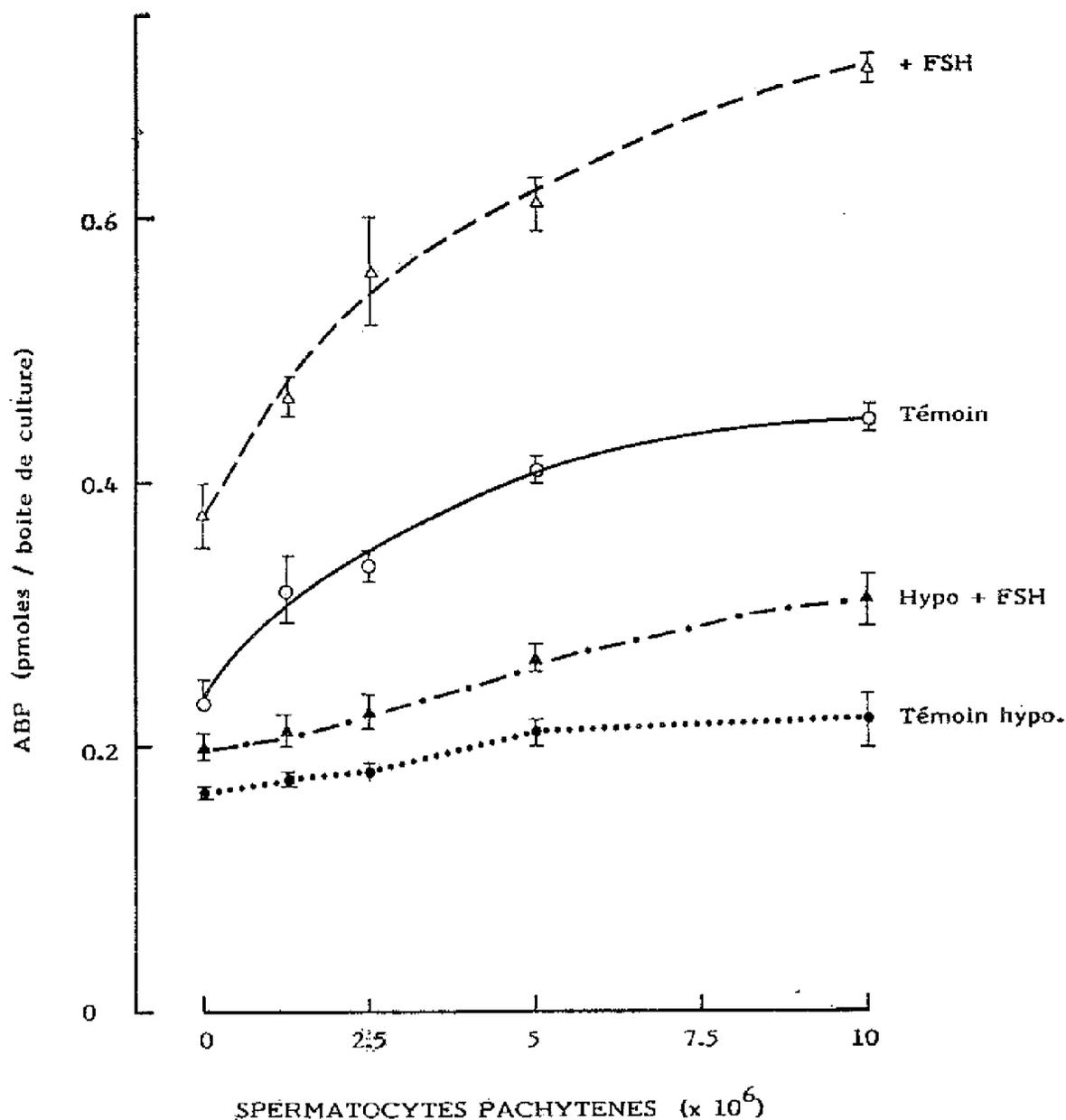


Figure 5

production d'ABP au niveau des témoins. En revanche, en présence de FSH, l'addition de 10^6 spermatoctes ne suffit pas à ramener la production d'ABP des cultures traitées (Hypo. + FSH) au niveau des contrôles stimulés (+ FSH).

Discussion et conclusion

La première approche de notre étude sur les interactions cellules de Sertoli-cellules germinales *in vitro* chez le rat a été indirecte et a consisté en l'élimination des cellules germinales contaminant une culture de cellules de Sertoli, selon la méthode décrite par STEFANINJ et al. (1980). Nos résultats sont en accord avec ces auteurs sur deux points: nous obtenons la dispari-

tion de la plupart des cellules germinales contaminantes et la production d'ABP est fortement abaissée. Cependant, ces auteurs montrent, contrairement à nos observations, que les vacuoles qui apparaissent dans le cytoplasme des cellules de Sertoli à la suite du traitement hypotonique, se résorbent dans les 4 heures qui suivent le traitement. De même, après traitement hypotonique, ils observent que les cellules de Sertoli restent stimulables par FSH bien que la production d'ABP soit réduite. Deux hypothèses peuvent être avancées pour expliquer la baisse du niveau d'ABP: la première est que l'absence des cellules germinales diminue fortement l'activité sécrétrice des cellules de Sertoli; cette thèse est défendue par l'équipe de STEFANINI (1980). La deuxième est que le traitement lui-même altère le métabolisme des cellules de Sertoli. Cette seconde hypothèse est étayée par nos résultats de coculture cellules de Sertoli-spermatocytes pachytène: la restauration du niveau contrôle nécessite l'ajout de 5.10^6 spermatocytes, or la contamination, par les éléments germinaux, d'une culture primaire non traitée au J₂ de culture représente 15%, soit moins de 200 000 cellules germinales (spermatocytes principalement).

Ces deux hypothèses cependant ne s'excluent pas et pour mieux définir les interrelations cellules de Sertoli-cellules germinales, nous avons préféré une approche directe et originale: la coculture cellules de Sertoli-cellules germinales. Nos résultats montrent que l'addition d'une préparation brute de cellules germinales à une culture primaire élève significativement les niveaux d'ABP. Nous avons également démontré, grâce aux séparations de cellules par élutriation centrifuge, que les spermatocytes pachytène étaient les principaux responsables de cette stimulation, tandis que les spermatides et les corps résiduels exerçaient un effet stimulateur faible, voire nul, sur la sécrétion d'ABP. Les effets des spermatocytes et des spermatides, apparaissent proportionnels à leur capacité d'adhésion aux cellules de Sertoli. Ces résultats rejoignent ceux de GALDIERI et al. (1983) montrant que les spermatocytes pouvaient adhérer à une monocouche sertolienne et en recouvrir jusqu'à 90% de la surface alors que les spermatides ne recouvraient jamais plus de 20% de la monocouche. Ces auteurs ont également suggéré que des jonctions s'établissaient, *de novo*, entre les spermatocytes et les cellules de Sertoli et que leurs interactions faisaient appel à des glycoprotéines membranaires.

Dans notre étude, l'effet des spermatides pourrait résulter de la contamination de cette fraction par les spermatocytes pachytène. Cette éventualité sera vérifiée lorsque nous disposerons de populations de spermatides purifiées à plus de 90% en couplant les séparations cellulaires par élutriation centrifuge aux séparations par gradients de Percoll tel que cela a été décrit par MEISTRICH et al. (1981).

Les corps résiduels stimulent peu la production d'ABP bien que notre étude montre, pour la première fois, qu'ils adhèrent en grand nombre aux cellules de Sertoli en culture. ROSEN-RUNGE (1952) et LACY (1962) ont suggéré un rôle important des C.R. dans la synchronisation de la spermatogénèse. Ce rôle n'est pas exclu, mais d'autres expériences sont nécessaires pour le mettre en évidence. Il est également possible que les C.R., tout

comme les spermatides exercent des effets sur des aspects de l'activité sertolienne, autres que la production d'ABP.

Enfin, en coculture, les LEC élèvent la production d'ABP. TUNG et FRITZ en 1980, de même HUTSON et STOCCO en 1981, ont également observé une telle stimulation de l'activité sertolienne en présence de cellules périvitubulaires, mais aussi de cellules non testiculaires telles que les fibroblastes embryonnaires ou des cellules épithéliales d'origine rénale. Les cellules épithéliales testées dans notre étude sécrètent, en coculture avec des hépatocytes de rat, de la fibronectine ainsi que différents types de collagène (GUGUEN-GUILLOUZO et al., 1983). Les LEC pourraient donc en coculture avec les cellules de Sertoli, jouer un rôle de soutien anatomique et fonctionnel.

En conclusion, cette étude montre principalement que les spermatocytes pachytène stimulent très significativement l'activité sécrétoire des cellules de Sertoli *in vitro*. Cette observation renforce l'hypothèse d'une régulation locale de la spermatogenèse.

Remerciements

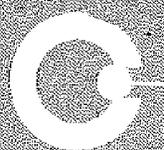
Nous remercions le Dr. Guguen-Guillouzo, Chargée de Recherche à l'I.N.S.E.R.M. de Rennes (U 49), pour nous avoir fourni des cellules épithéliales, le Dr. Jo Le Lannic pour son aide et ses conseils au microscope à balayage, Mademoiselle F. de Sallier Dupin, Madame M. Mathelier et M. D. Blanchet pour la réalisation technique du manuscrit. Ce travail a été financé par un contrat I.N.S.E.R.M. N° 844010.

Bibliographie

- 1) BYSKOV A. G. et SAXEN L.: Induction of meiosis in fetal mouse testis *in vitro*. *Dev. Biol.*, 52, 193-200, 1976.
- 2) DORRINGTON J. H., ROLLER N. F. et FRITZ I. B.: Effects of follicle stimulating hormone on cultures of Sertoli cell preparations. *Mol. Cell. Endocr.*, 3, 57-70, 1975.
- 3) FEIG L. A., BELLVÉ A. R., ERICKSON N. H. et KLAGSBRUN M.: Sertoli cells contain a mitogenic polypeptide. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 77, 47-74, 1980.
- 4) FRITZ I. B., KOMMERTS F. F. G., LOUIS G. B. et DORRINGEON J. H.: Regulation by FSH and dibutyryl cyclic AMP of the formation of androgen-binding protein in Sertoli cell enriched cultures. *J. Reprod. Fert.*, 46, 17-24, 1976.
- 5) GALDIERI M. and MONACO L.: Evidence of protein secretion by cultured pachytene spermatocytes. *Cell Differentiation*, 13, 49-55, 1983.
- 6) GUGUEN-GUILLOUZO C., CLEMENT B., BAFFET G., BEAUMONT G., MOREL-CHANY E., GLAISE D. and GUILLOUZO A.: Maintenance and reversibility of active albumin secretion by adult rat hepatocytes co-cultured with another liver epithelial cell type. *Exp. Cell Res.*, 143, 47-54, 1983.
- 7) HUTSON J. C. and STOCCO D. M.: Peritubular cell influence on the efficiency of androgen-binding protein secretion by Sertoli cells in culture. *Endocr.*, 112, 1375-1381, 1981.
- 8) JÉGOU B., LE GAC F. and DE KRETZER D. M.: Seminiferous tubule fluid and interstitial fluid production. Effects of age and hormonal regulation in immature rats. *Biol. Reprod.*, 27, 590-595, 1982.
- 9) JÉGOU B., LE GAC F., IRBY D. C. and DE KRETZER D. M.: Studies on seminiferous tubule fluid production in the adult rat: Effects of hypophysectomy and treatment with FSH, LH and testosterone. *Int. J. Androl.*, 6, 249-260, 1983.
- 10) JÉGOU B., LAWS A. O. and DE KRETZER D. M.: The effects on testicular function in-

- duced by short-term exposure of the rat testis to heat: further evidence for interaction of germ cells, Sertoli cells and Leydig cells. *Int. J. Androl.*, 7, 244-257, 1984.
- 11) JUTTE N. H. P. M., JANSEN R., GROOTEGOED J. A., ROMMERTS F. F. G., CLAUSEN O. P. F. and VAN DER MOLEN H. J.: Regulation of survival of rat pachytene spermatocytes by lactate supply from Sertoli cells. *J. Reprod. Fert.*, 65, 431-438, 1982.
 - 12) KERR J. B. and DE KRETZER D. M.: Cyclic variations in Sertoli cell lipid content throughout the spermatogenic cycle in the rat. *J. Reprod. Fert.*, 43, 1-8, 1975.
 - 13) K199 J. B., RICH K. A. and DE KRETZER D. M.: Effects of experimental cryptorchidism on the ultrastructure and function of the Sertoli cell and peritubular tissue of the rat testis. *Biol. Reprod.*, 20, 409-422, 1979.
 - 14) LACROIX M., SMITH F. E., FRITZ I. B.: Secretion of plasminogen activator by Sertoli cell enriched cultures. *Mol. Cell. Endocr.*, 9, 227-240, 1977.
 - 15) LACY D.: Certain aspects of testis structure and function. *Br. Med. Bull.*, 18, 205-208, 1962.
 - 16) LE GAC F., ATTRAMADAL M., BORREBAEK B., HORN R., FROYSA A., TVERMYR M. and HANSSON V.: Effects of FSH isoproterenol and cyclic AMP on the production of lactate and pyruvate by cultured Sertoli cells. *Archiv. Androl.*, 10, 149-154, 1983.
 - 17) MEISTRICH L., MARVIN, LONGTIN J., BROCK W. A., GRIMES S. R. and MYLES L. MACE: Purification of rat spermatogenic cells and preliminary biochemical analysis of these cells. *Biol. Reprod.*, 25, 1065-1077, 1981.
 - 18) PARVINEN M.: Regulation of the seminiferous epithelium. *Endocrine Reviews*, vol. 3, 404-417, 1982.
 - 19) RICH K. A. and DE KRETZER D. M.: Effect of fetal irradiation on testicular receptors and testosterone response to gonadotrophin stimulation in adult rats. *Int. J. Androl.*, 2, 343-352, 1979.
 - 20) RISBRIDGER G. J., KERR J. B. and DE KRETZER D. M.: Evaluation of Leydig cell function and gonadotropin binding in unilateral and bilateral cryptorchidism: evidence for local control of Leydig cell function by the seminiferous tubule. *Biol. Reprod.*, 24, 534-540, 1981 a).
 - 21) RISBRIDGER G. P., KERR J. B., PEAKE R. A. and DE KRETZER D. M.: An assessment of Leydig cell function after bilateral or unilateral efferent duct ligation: Further evidence for local control of Leydig cell function. *Endocrinology*, 109, 1234-1241, 1981 b).
 - 22) RITZEN E. M., FRENCH F. S., WEDDINGTON S. C., NAYFEM S. N. and HANSSON V.: Steroid binding in polyacrylamide gels-quantitation at steady state conditions. *J. Biol. Chem.*, 249, 6597-6604, 1974.
 - 23) RITZEN E. M., HANSSON V. and FRENCH F. S.: The Sertoli cell. In: «The Testis». Eds. H. Burger and D. de Kretzer, vol. 8, 171-194, 1981.
 - 24) ROOSEN-RUNGE E. C.: Kinetics of spermatogenesis in mammals. *Amer. N. Y. Acad. Sci.*, 55, 574-584, 1952.
 - 25) STEFANINI M., ZIPARO E., PALOMBI F., GALDIERI M., GEREMIA R. and RUSSO M. A.: Evidence for *in vitro* interaction between Sertoli cells and germ cells in the rat. In: «Animal models in human reproduction», 149-157, 1980.
 - 26) TUNG P. S. and FRITZ I. B.: Interactions of Sertoli cells with pyoid cells *in vitro*. *Biol. Reprod.*, 23, 207-217, 1980.
 - 27) WELSH M. J. and TREISMAN G. J.: Sertoli cell adenylate cyclase is stimulated by a factor associated with germ cells. *J. Cell. Biol.*, 5, 59-69, 1984.

A LA
RECHERCHE
DU POUVOIR
FECONDANT
DU SPERME



FONDAZIONE PER GLI STUDI
SULLA RIPRODUZIONE UMANA

ROBERT SCHOYSMAN

A LA RECHERCHE DU POUVOIR
FECONDANT DU SPERME

2ème Congrès de la S.A.L.F. à Bruxelles



FONDAZIONE PER GLI STUDI
SULLA RIPRODUZIONE UMANA