



VII SIMPÓSIO DE CIÊNCIAS DA UNESP – DRACENA  
VIII ENCONTRO DE ZOOTECNIA – UNESP DRACENA  
DRACENA, 05 A 06 DE OUTUBRO DE 2011



REVISÃO DE LITERATURA  
TRANSPLANTE ESPERMATOGONIAL

<sup>1</sup>Santos, P. R. S., <sup>1</sup>Lessa, T.B., <sup>1</sup>Silva, L.C.S., <sup>1</sup>Constantino, M.V.P., <sup>2</sup>Luz, P.A.C., <sup>1</sup>Bertassoli, B.M., <sup>1</sup>Arroyo, M.A.M.,  
<sup>3</sup>Ambrósio, C.E., <sup>1</sup>Assis Neto, A.C.

<sup>1</sup>Departamento de Cirurgia, Setor Anatomia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, FMVZ/USP, <sup>2</sup> Faculdade de Zootecnia Unesp/Dracena, <sup>3</sup> Departamento de Ciências Básicas da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos FZEA-USP

### INTRODUÇÃO

A espermatogônia, uma célula-tronco germinativa, tem um papel fundamental no processo espermatogênico, que a partir do seu desenvolvimento, origina os espermatozoides, uma célula haplóide altamente especializada (FRANÇA & RUSSELL, 1998). Como células-tronco as espermatogônias são relativamente resistentes a uma ampla variedade de insultos e, muitas vezes, sobrevivem quando outros tipos de células germinativas são afetados (DYM e Clermont, 1970; Huckins e Oakberg, 1978). Portanto, essas células podem servir como uma fonte potencial de células germinativas que podem repovoar os túbulos seminíferos após insulto ao testículo. O mecanismo de renovação e de proliferação de células-tronco tem sido objeto de numerosos estudos (Clermont e Bustus-Obregon, 1968; Huckins, 1971; Oakberg, 1971; De Rooij, 1988) e não foi totalmente elucidado.

Nos últimos anos o transplante de espermatogônias, assim como os mecanismos moleculares que regulam o reconhecimento das células-tronco injetadas e sua translocação para a superfície basal do túbulo, tornou-se uma importante ferramenta para avaliar a biologia das espermatogônias tronco e sua área para restaurar a fertilidade em animais inférteis, assim como para a produção de animais transgênicos com células germinativas geneticamente modificadas, também sendo importante para a reprodução assistida (Wang et al., 2010).

### DESENVOLVIMENTO

As espermatogônias são originadas a partir do gonócitos e permanecem dentro dos túbulos seminíferos basalmente, e sofrem várias divisões mitóticas que dão origem a um grande número de células, que acabarão sofrendo meiose e diferenciação, formando os espermatozoides. Baseada em características morfológicas, as espermatogônias são geralmente distinguíveis em três tipos básicos: espermatogônias do tipo A, espermatogônias do tipo B e espermatogônias do tipo Intermediário (Courot et al, 1970). Estes tipos de espermatogônias estão ligados a outras do mesmo tipo por parte das áreas abertas citoplasmáticas, como pontes intercelulares (Weber e Russell, 1987). Essas pontes intercelulares estão para promover o desenvolvimento de síncrono espermatogonial das células clones, bem como o desenvolvimento síncrono de todos os outros tipos de células (Huckins, 1978).



**VII SIMPÓSIO DE CIÊNCIAS DA UNESP – DRACENA**  
**VIII ENCONTRO DE ZOOTECNIA – UNESP DRACENA**  
**DRACENA, 05 A 06 DE OUTUBRO DE 2011**



Devido a sua definição funcional, as células-tronco são diretamente identificadas através do transplante, que avalia sua capacidade regenerativa. As espermatogônias tronco tem potencial de auto renovação e transplantadas, a capacidade de regeneração do processo espermatogênico. A partir de microinjeções de espermatogônias nos túbulos seminíferos, faz com que ocorra a migração das mesmas para a membrana basal, formando redes “patches” de espermatogônias, e assim reinicia a espermatogênese, e dentre algumas semanas, produz espermatozóides novamente (Kanatsu-Shinohara et al., 2010b). Desta forma as espermatogônias tronco são analisadas através do transplante de espermatogônias dos testículos em que são injetados em túbulos seminíferos de um testículo infértil, resultando na regeneração da espermatogênese. Ensaios clínicos de transplante de espermatogônias foram realizados em cabras, suínos, e humanos (Honaramooz et al., 2003; Honaramooz et al., 2002; Schalatt et al., 1999), porém acredita-se que a identificação de biomarcadores de espermatogônias tronco são a base fundamental para sistematicamente desenvolver de forma eficiente, eficaz e segura, estratégias para a restauração da infertilidade.

Brinster & Zimmermann (1994), em 1994, realizaram o primeiro ensaio de transplante de espermatogônias com o modelo do camundongo através da retirada de células germinativas de camundongos férteis e transplantadas nos túbulos seminíferos de camundongos inférteis para a ocorrência do processo espermatogênico das células derivadas dos camundongos doadores. Foram observados nos meses seguintes após o transplante, colônias de espermatogônias de origem do doador nos túbulos seminíferos de camundongos inférteis.

Em 1997, Ogawa et al, publicou um relatório sobre técnicas e metodologias aplicadas a espermatogônias. Primeiramente através de injeção diretamente na rede testis, segundo com a agulha enfiada diretamente sobre o ducto eferente. Em 1999, Ogawa reportou o transplante entre espécies, no entanto a espermatogênese do hamster foi qualitativamente e quantitativamente inferior de camundongo para camundongo e do rato para transplantes em camundongos. Schlatt et al em 1999, reportou o transplante de células germinativas em testículos de touro, macacos e humanos. Relatou que o método que conseguiu maior sucesso de transplante foi através de microinjeção na rede testis guiada por ultra-som.

No momento em que as células tronco germinativas são transplantadas em túbulos seminíferos de camundongos inférteis, somente as espermatogônias tronco podem permanecer na região da membrana basal para que ocorra a regeneração do processo espermatogênico (Kubota et al., 2009; Brinster, 2002; Brinster & Zimmermann, 1994; Brinster & Avarbock, 1994).

A alta produtividade da espermatogênese é dependente das espermatogônias, uma vez que como células tronco, possuem caráter auto renovação, e de produzir células filhas que irão proliferar e diferenciar em espermatozóides (Kubota et al., 2009; Potten & Loeffler, 1990). O controle da alta renovação e diferenciação e os mecanismos de regulação das espermatogônias são fundamentais para manutenção do processo espermatogênico (Kubota et al., 2009). Wang et al. (2010) diz que para que o transplante



VII SIMPÓSIO DE CIÊNCIAS DA UNESP – DRACENA  
VIII ENCONTRO DE ZOOTECNIA – UNESP DRACENA  
DRACENA, 05 A 06 DE OUTUBRO DE 2011



de espermatogônia seja bem sucedido, tem que ocorrer uma perda das células germinativas do hospedeiro para permitir uma efetiva colonização das células doadoras, as espermatogônias tronco. A colonização depende da boa condição de células transplantadas para competir com as espermatogônias presentes no túbulo seminífero do receptor, determinada pelo tamanho relativo da população de espermatogônias e o acesso das células transplantadas para a membrana basal. A eficiência do transplante é aumentada a partir de tratamentos ablativos que reduzem as células tronco do receptor e aumentam a acessibilidade das células germinativas oriundas do doador (Shinohara et al., 2002).

### CONCLUSÃO

A infertilidade atinge algumas questões importantes como na qualidade de vida nos humanos, na preservação das espécies e na produção animal. Uma das propostas ao tratamento da infertilidade seria a preservação das espermatogônias tronco (SSCs) através da criopreservação e assim para um posterior transplante autólogo dessas células tronco (Geens et al., 2008). Nos animais esta ferramenta traz resultados animadores, já que foram realizados estudos tanto com amostras frescas quanto com amostras congeladas em diferentes espécies (Avarbock et al., 1996; Schlatt et al., 2002). Contudo, é necessária uma maior acurácia desta técnica para aplicação clínica em humanos, uma vez que dominada e bem sucedida à técnica, pode ser capaz assim de reestabelecer a fertilidade masculina (Brinster, 2007; Goossens and Tournaye, 2007).

### REFERÊNCIAS

- Avarbock MR, Brinster CJ, Brinster RL. Reconstitution of spermatogenesis from frozen spermatogonial stem cells. **Nat Med** 1996; 2:693–696.
- Brinster RL, Avarbock MR. Germline transmission of donor haplotype following spermatogonial transplantation. **Proc Natl Acad Sci USA** 1994; 91:11303–11307.
- Brinster RL, Zimmermann JW. Spermatogenesis following male germ-cell transplantation. **Proc Natl Acad Sci USA** 1994; 91: 11298–302.
- Brinster RL. Germline stem cell transplantation and transgenesis. **Science** 2002; 296:2174–2176.
- Brinster RL. Male germline stem cells: from mice to men. **Science** 2007; 316:404–405.
- Clermont, Y. e Bustus-Obregon, E. Re-examination of spermatogonial renewal in the rat by means of seminiferous tubules mounted "in toto". **Am J Anat.** 1968 Mar;122(2):237-47.
- Courot M, Hochereaua-De Reviers MT, Ortavant R. In: Johnson AD, Gomes W R, Vandemark NL. The testis. New York: **Academic Press** 1970; 1:339 – 431.
- De Rooij, D.G. Regulation of the proliferation of spermatogonial stem cells. **J Cell Sci Suppl.** 1988;10:181-94. Review.
- França LR, Russell LD. **The testis of domestic animals.** In: Regadera, J. & Martinez-Garcia (eds.). Male reproduction. A multidisciplinary overview. Churchill Livingstone, Madrid 1998, 197-219.



VII SIMPÓSIO DE CIÊNCIAS DA UNESP – DRACENA  
VIII ENCONTRO DE ZOOTECNIA – UNESP DRACENA  
DRACENA, 05 A 06 DE OUTUBRO DE 2011



- Geens M, Goossens E, De Block G, Ning L, Van Saen D and Tournaye H. Autologous spermatogonial stem cell transplantation in man: current obstacles for a future clinical application. **Human Reproduction** 2008; (14)2:121–129.
- Goossens E, Tournaye H. Is there a clinical future for spermatogonial stem cells? **CSCRT** 2007; 2:189–195.
- Honaramooz A, Behboodi E, Megee SO, Overton SA, Galantino-Homer H, Echelard Y, Dobrinski I. Fertility and germline transmission of donor haplotype following germ cell transplantation in immunocompetent goats. **Biology of reproduction** 2003; 69:1260-1264.
- Honaramooz A, Megee SO, and Dobrinski I. Germ cell transplantation in pigs. **Biology of Reproduction** 2002; 66, 21–28.
- Huckins C. The spermatogonial stem cell population in adult rats. I. Their morphology, proliferation and maturation. **Anat Rec.** 1971 Mar;169(3):533-57.
- Huckins C. The morphology and kinetics of spermatogonial degeneration in normal adult rats: an analysis using a simplified classification of the germinal epithelium. **Anat. Rec** 1978. 190:905–26.
- Kanatsu-Shinohara M, Ogonuki N, Miki H, Inoue K, Morimoto H, Takashima S, Ogura A and Shinohara T. Genetic influences in mouse spermatogonial stem cell self-renewal. **Journal of Reproduction and Development** 2010; (56)1:145-153.
- Kubota H, Avarbock MR, Schmidt JA and Brinster RL. Spermatogonial stem cells derived from infertile Wv/Wv mice self-renew in vitro and generate progeny following transplantation. **Biology of Reproduction** 2009; 81:293–301.
- Oakberg E. F. Spermatogonial stem-cell renewal in the mouse. **Anat Rec.** 1971 Mar;169(3):515-31.
- Ogawa T, Arechaga JM, Avarbock MR, Brinster RL. Transplantation of testis germinal cells into mouse seminiferous tubules. **Int J Dev Biol** 1997; 41:111–122.
- Ogawa T, Dobrinski I, Avarbock MR and Brinster RL. Xenogeneic spermatogenesis following transplantation of hamster germ cells to mouse testes. **Biology of Reproduction** 1999; 60:515–521.
- Potten CS, Loeffler M. Stem cells: attributes, cycles, spirals, pitfalls and uncertainties: lessons for and from the crypt. **Development** 1990; 110: 1001–1020.
- Schlatt S, Rosiepen G, Weinbauer GF, Rolf C, Brook PF, *et al.* Germ cell transfer into rat, bovine, monkey and human testes. **Hum Reprod** 1999; 14:144–50.
- Shinohara T, Inoue K, Ogonuki N, Kanatsu-Shinohara M, Miki H, Nakata K, Kurome M, Nagashima H, Toyokuni S, Kogishi K, Honjo T, Ogura A. Birth of offspring following transplantation of cryopreserved immature testicular pieces and in-vitro microinsemination. **Hum Reprod.** 2002 Dec;17(12):3039-45.
- Wang Z, Zhou XH, Yuan YL, Zheng XM. Optimal dose of busulfan for depleting testicular germ cells of recipient mice before spermatogonial transplantation. **Asian Journal of Andrology** 2010; 12: 263–270.
- Weber JE, Russell LD, Wong V, Peterson RN. Three-dimensional reconstruction of a rat stage V Sertoli cell: II. Morphometry of Sertoli- Sertoli and Sertoli-germ cell relationships. **Am J Anat** 1983; 167:163– 179.