

Regulasi Androgen dalam Spermatogenesis untuk Meningkatkan Fertilitas Ternak Jantan

(Androgen Regulation in Spermatogenesis to Increase Male Fertility)

Hasbi Hasbi¹ dan S Gustina²

¹Departemen Produksi Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin
Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10, Makassar, 90245.

²Jurusan Peternakan, Fakultas Peternakan dan Perikanan, Universitas Sulawesi Barat, Majene 91412
srigustinasain@gmail.com

(Diterima 22 November 2017 – Direvisi 5 Februari 2018 – Disetujui 3 Maret 2018)

ABSTRACT

Male fertility is affected by quantity and quality of sperm which controlled by androgens (testosterone and 5 α -dihydrotestosterone) mediated by androgen receptors (AR). Androgen receptors belong to receptor group of steroid hormone and a group of ligand-activated nuclear receptor superfamily. This paper explains androgen hormone and its regulation in spermatogenesis to increase male fertility. Regulation of androgen hormone in spermatogenesis include initiation of spermatogenesis, proliferation and maturation of Sertoli cells, germ cell development, spermatogonia, meiosis, and spermiogenesis. The role of androgen hormone in regulation of spermatogenesis is influenced by AR, luteinizing hormone (LH), and follicle stimulating hormone (FSH) levels. Disruption of spermatogenesis will cause low male fertility. However, low concentrations of AR, LH and FSH could be enhanced by exogenous gonadotrophine releasing hormone (GnRH), LH, FSH, and testosterone to increase male fertility.

Key words: Androgen, androgen reseptor, spermatogenesis, fertilitas pejantan

ABSTRAK

Fertilitas pejantan dipengaruhi oleh jumlah dan kualitas sperma di bawah kontrol hormon terutama androgen (testosteron dan 5 α -dihidrotestosteron) yang dimediasi oleh androgen reseptor (AR). Androgen reseptor termasuk dalam kelompok reseptor hormon steroid dan merupakan kelompok *ligand-activated nuclear receptor superfamily*. Tulisan ini memberikan penjelasan mengenai hormon androgen dan regulasinya dalam spermatogenesis untuk meningkatkan fertilitas pejantan. Regulasi hormon androgen pada spermatogenesis meliputi inisiasi spermatogenesis, proliferasi dan maturasi sel Sertoli, perkembangan *germ cell*, spermatogonia, meiosis serta spermiogenesis. Peran hormon androgen dalam regulasi spermatogenesis sangat dipengaruhi oleh keberadaan AR dan konsentrasi *luteinizing hormone* (LH) dan *follicle stimulating hormone* (FSH). Terganggunya spermatogenesis akan menyebabkan rendahnya fertilitas pejantan. Rendahnya konsentrasi AR, LH dan FSH dapat ditingkatkan dengan pemberian *gonadotrophine releasing hormone* (GnRH), LH, FSH dan testosteron eksogen sehingga dapat meningkatkan fertilitas pejantan.

Kata kunci: Androgen, androgen reseptor, spermatogenesis, male fertility

PENDAHULUAN

Peningkatan produktivitas ternak dapat dilakukan melalui program pemuliaan dan perbaikan efisiensi reproduksi. Kinerja reproduksi kaitannya dengan peningkatan kebuntingan dan kelahiran yang ditentukan oleh faktor pejantan, dalam hal ini perkembangan saluran reproduksinya untuk menghasilkan spermatozoa yang mempunyai kemampuan dalam membuahi sel telur. Produksi spermatozoa ditentukan oleh androgen yang merupakan hormon steroid yang berperan penting untuk mempertahankan karakteristik pejantan (Kerkhofs et al. 2009) dan mendukung perkembangan *germ cell* dengan

target utama sel-sel Sertoli (Verhoeven et al. 2010; Walker 2011). Terdapat dua hormon androgen utama yaitu testosteron dan 5 α -dihidrotestosteron. Hormon androgen dihasilkan di sel-sel Leydig testis dan fungsi utamanya dalam regulasi spermatogenesis (Wang et al. 2009; Ivell et al. 2013). Grinspon et al. (2012) melaporkan bahwa pada pejantan sekresi testosteron hanya selama 3-6 bulan setelah dilahirkan dan konsentrasinya tetap sangat rendah sampai awal pubertas. Aksi hormon androgen dalam mengatur spermatogenesis dimediasi oleh androgen reseptor (AR) (*nuclear receptor subfamily 3, group C, gene 4/NR3C4*) (Brinkmann 2009; Zhou 2010).

Beberapa peneliti melaporkan bahwa ekspresi AR pada testis sangat penting untuk keberlangsungan spermatogenesis. Eacker et al. (2007) menjelaskan bahwa fungsi AR pada sel Sertoli penting untuk memelihara kemampuan sel Sertoli dan konsentrasi hormon untuk mendukung meiosis I selama spermatogenesis. Peran hormon androgen terutama testosteron dan 5α -dihidrotestosteron dalam inisiasi, pemeliharaan dan restorasi spermatogenesis adalah penting. Beberapa pendekatan yang dapat diterapkan untuk mempelajari peran androgen dalam spermatogenesis dapat dilakukan dengan berbagai model khususnya untuk mempelajari efek tunggal dari hormon (*follicle stimulating hormone/FSH*, *luteinizing hormone/LH* dan testosteron), konsentrasi dan dampaknya (McLachlan et al. 2002). Keberadaan hormon androgen terutama testosteron dan 5α -dihidrotestosteron sangat mempengaruhi fertilitas pejection. Oleh karena itu, tulisan ini bertujuan memberikan gambaran mengenai hormon androgen dan regulasinya dalam spermatogenesis untuk meningkatkan fertilitas pejection.

ANDROGEN RESEPTOR

Androgen adalah hormon yang disintesis dari kolesterol oleh sel-sel Leydig testis (Brinkmann 2009) dan berperan dalam mengatur spermatogenesis dengan cara berikatan dengan AR intraseluler. Bansal et al. (2015) melaporkan bahwa AR berperan sangat penting pada proses diferensiasi seksual pejection. Androgen reseptor termasuk dalam kelompok reseptor hormon steroid secara umum dan merupakan kelompok *ligand-activated nuclear receptor superfamily* (Zhou 2010). Lebih lanjut, androgen reseptor terdapat pada *germ cells* (Aquila et al. 2007; Merlet et al. 2007) dan diketahui beraktivitas di dalam sel Sertoli (Chemes et al. 2008; Hazra et al. 2013), sel Leydig (Xu et al. 2007; Rey et al. 2009) dan *peritubular myoid cells* dari testis (Chemes et al. 2008; Boukari et al. 2009; Welsh et al. 2009). Testosteron atau *5 α -reduced metabolite dihydrotestosterone* (DHT), mengikat *cytosolic AR* yang kemudian mengalami dimerisasi, translokasi ke inti dan mengikat *androgen response elements* (AREs) di dalam mendukung *androgen-responsive genes* untuk memodulasi transkripsi gen atau yang lebih dikenal sebagai "*genomic*" *pathway of action*. Hal ini juga diketahui berperan pada rapid "*nongenomic*" *signal transduction pathways* yang diinisiasi oleh androgen dalam sel Sertoli dan juga tampaknya terlibat dalam modulasi fungsi sel Sertoli (Eacker et al. 2007).

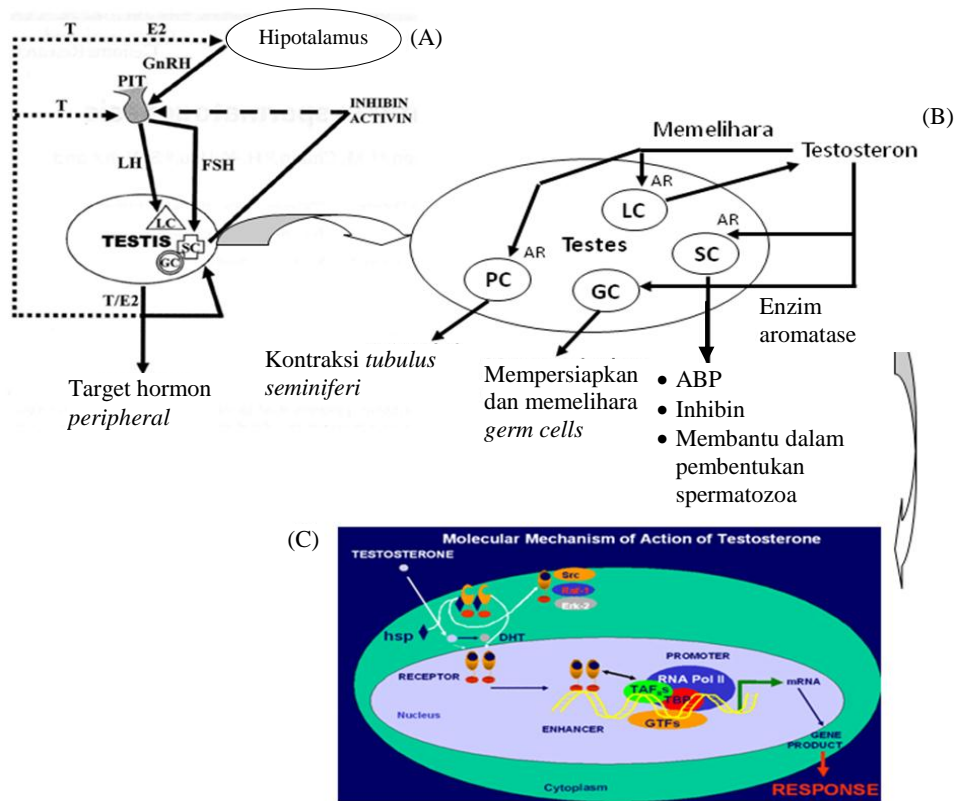
Pendapat umum saat ini menunjukkan bahwa *germ cells* yang kekurangan AR, meskipun terjadi *immunoexpression* dari AR dalam *germ cells* tidak ditunjukkan pada sel-sel yang lain (Hill et al. 2004). Androgen menstimulasi enzim aromatisasi sebagai

mRNA dalam mempersiapkan *germ cells* tanpa keterlibatan sel somatik, lebih lanjut dijelaskan bahwa efek ini dapat diblokir dengan cara pemberian AR antagonis seperti *bicalutamide* secara eksogen (Bourguiba et al. 2003; Rathkopf & Scher 2013) dan menunjukkan bahwa *germ cells* mungkin mampu merespon langsung ke androgen dalam hal ekspresi terhadap enzim aromatisasi. Namun demikian, pada penelitian *germ cell transplantation* menunjukkan bahwa *germ cell* yang kekurangan AR dapat berkembang secara normal di testis yang mengandung AR fungsional (Kerkhofs et al. 2009).

Selama perkembangan testis *postnatal* pada tikus, *androgen binding sites* di testis meningkat setelah 15 hari, yang berkaitan dengan proliferasi dari *AR-expressing Leydig cells* serta peningkatan jumlah *androgen binding sites* pada setiap sel Sertoli. Sel Sertoli berperan dalam regulasi spermatogenesis dan perubahan produksi spermatozoa termasuk dalam hal mendukung struktur dan memberikan nutrisi untuk perkembangan *germ cells*, memfagositosis *germ cells* degenerasi, pelepasan spermatid dan produksi sejumlah protein yang mengatur pelepasan hormon hipofisis serta mempengaruhi aktivitas mitosis spermatogonia (Johnson et al. 2008). Sel Sertoli pada periode neonatal menunjukkan AR *immunoreactivity* yang lemah yang akan semakin meningkat setelah hari ke-14 (yaitu setelah sel Sertoli berproliferasi) untuk mencapai dewasa pada hari ke-45 (Knobil & Neill's 2006).

Sementara itu, Dong et al. (2007) melaporkan bahwa sel Leydig dewasa pertama kali terlihat sekitar 7-11 hari setelah dilahirkan. Sel Leydig berperan untuk memproduksi hormon testosteron yang distimulasi oleh keberadaan LH. *Luteinizing hormone* meningkatkan aktivitas enzim yang akan merubah kolesterol menjadi hormon testosteron (Brinkmann 2009). Peningkatan intensitas AR *immunostaining* dari sel Sertoli, juga terlihat dalam testis *marmoset*, dengan hanya sebagian dari sel Sertoli yang menunjukkan *immunoreactivity* yang lemah pada hewan neonatal, namun dengan pewarnaan yang kuat pada seluruh bagian dari sel Sertoli menunjukkan bahwa *immunoreactivity* semakin meningkat selama periode menjelang prepubertas dan pubertas (Knobil & Neill's 2006). Dengan demikian, meskipun testis berkembang dan dapat respon terhadap androgen, tetapi ekspresi AR pada umumnya lebih rendah sebelum dewasa dibandingkan dengan setelah dewasa.

Gambar 1A menunjukkan mekanisme hormonal via hipotalamus-hipofisa-gonad. Hipotalamus mensekresikan *gonadotropin releasing hormone* (GnRH) yang akan menstimulasi hipofisa anterior untuk mensekresikan LH dan FSH yang akan menstimulasi sel Leydig testis mensekresikan testosteron dan estrogen serta sel Sertoli mensekresikan inhibin dan aktivin. Testosteron dan estrogen yang



LC: Leydig cell; SC: Sertoli cell; GC: Germ cell; PC: Peritubular cell; ABP: Androgen binding protein; AR: Androgen receptor; DHT: 5 α -dihydrotestosterone; hsp: Heat shock proteins; TBP: TATA box binding protein; TAF's: Associating factors; GTF's: General transcription factors

Gambar 1. (A) Mekanisme hormonal via hipotalamus-hipofisa-gonad; (B) Mekanisme testosteron dalam testis; (C) Mekanisme molekuler testosteron dalam sel

Sumber: Collins et al. (2003) yang dimodifikasi; Brinkmann (2009)

dihasilkan oleh sel Leydig bersifat umpan balik negatif baik terhadap hipotalamus maupun hipofisa anterior yang akan menekan sekresi GnRH dari hipotalamus dan FSH, serta LH dari hipofisa anterior. Demikian pula inhibin dan aktivin yang dihasilkan oleh sel Sertoli bersifat umpan balik negatif spesifik terhadap hipofisa anterior. Gambar 1B, testosteron yang dihasilkan oleh sel Leydig akan berikatan dengan AR di sel Sertoli yang akan mensekresikan *androgen binding protein* (ABP) dan inhibin serta membantu dalam proses pembentukan spermatozoa. Selain itu, testosteron akan mempersiapkan dan memelihara germ cells yang difasilitasi oleh enzim aromatase dan memelihara sel Leydig serta menstimulasi PC untuk kontraksi *tubulus seminiferus*. Gambar 1C, protein utama yang terlibat adalah AR yang akan berikatan langsung dengan testosteron dan DHT. Setelah berasosiasi dengan hsp reseptor masuk kedalam inti via *intrinsic nuclear localization signal* dan berikatan dengan testosteron dan DHT dalam ditoplasma atau inti. Ikatan antara AR dengan testosteron dan DHT terjadi secara homodimer pada elemen DNA spesifik. Tahapan selanjutnya akan

terjadi rekrutmen koaktivator yang dapat membentuk jembatan komunikasi antara reseptor dan beberapa komponen transkripsi. Komunikasi antara kompleks reseptor androgen dan beberapa komponen transkrip seperti RNA-*polymerase* II (RNA-Pol II), TBP, TAF's, dan GTF's dapat secara langsung maupun tidak. Komunikasi tersebut memicu sintesis mRNA dan akibatnya terjadi sintesis protein yang akhirnya akan memicu terjadinya respon androgen (Collins et al. 2003; Brinkmann 2009).

Ekspresi AR dalam sel Sertoli ditunjukkan dengan cara atau tahap tertentu. Sebagai contoh pada tikus, AR mRNA dan *immuno-expression* maksimal pada pertengahan spermatogenik yakni pada tahap spermatosit primer (VII) dan spermatosit leptotene (VIII) (Hill et al. 2004), dengan *down-regulation* yang jelas selama tahap VIII. Puncak ekspresi dari AR pada tahap pertengahan spermatogenik diketahui pada marmoset dan manusia, sedangkan pada hewan pengerat pada tahap VII-VIII. Hal ini memperlihatkan bahwa modulasi AR pada sel Sertoli kemungkinan menjadi mekanisme yang sangat penting dimana

respon dari epitel seminiferus dikontrol oleh hormon androgen. Sel Sertoli adalah satu dari dua jenis sel somatik pada *tubulus seminiferus* yang berperan penting pada spermatogenesis (Johnson et al. 2008).

Ekspresi AR dalam sel Sertoli distimulasi oleh keberadaan FSH. Namun demikian, respon terhadap FSH tampaknya menurun dengan bertambahnya umur. Hal ini mungkin mencerminkan penurunan FSH-*responsiveness* terhadap sel. Meskipun demikian, secara *in vitro* telah dilaporkan bahwa testosteron tampaknya berperan positif dalam mengatur reseptor sendiri seperti yang ditunjukkan pada stimulasi ekspresi AR sel Sertoli dan pengurangan konsentrasi testosteron intratestikular terkait dengan menurunnya AR protein sel Sertoli secara *in vivo* (Hill et al. 2004). Zhang et al. (2004) melaporkan bahwa *nuclear factor-κB* (NF-κB) adalah aktivator transkripsi kuat dari gen AR dalam sel Sertoli. Lebih lanjut dijelaskan bahwa *tumor necrosis factor α* (TNFα) distimulasi NF-κB mengikat AR promotor dan meningkatkan ekspresi AR dalam sel Sertoli. Verhoeven et al. (2010) menjelaskan bahwa salah satu tahapan yang terlihat pada perkembangan *germ cell* yang dikontrol oleh AR adalah pada tahap VII dan VIII dari siklus spermatogenesis.

REGULASI ANDROGEN PADA SPERMATOGENESIS

Testosteron dan 5α-dihidrotestosteron berperan dalam inisiasi, pemeliharaan dan restorasi spermatogenesis telah menjadi subjek penelitian yang menarik, namun mekanisme seluler dan molekuler aksi androgen pada testis belum diketahui secara detail. Testosteron disintesis oleh sel Leydig testis sebagai respon terhadap stimulasi LH dan berperan penting untuk memelihara spermatogenesis (Smith & Walker 2014). Aksi biologi androgen dalam epitel seminiferus pada prinsipnya dianggap dimediasi melalui AR yang cenderung dilokalisasi secara eksklusif dalam sel Sertoli yang konsentrasi sangat tinggi yakni 100-200 ng/gm. Sebagai contoh, konsentrasi AR pada jaringan testis hewan pengerat adalah $3,5-7,0 \times 10^{-7}$ M dan dua sampai tiga kali lipat lebih tinggi pada manusia, bahkan dapat menjadi 50-100 kali lipat lebih tinggi dalam sirkulasi. Namun diperkirakan konsentrasi AR testis adalah 3×10^{-9} M. Hal ini menunjukkan bahwa AR adalah *fully saturated* dalam testis normal. Konsentrasi AR yang tinggi mengindikasikan bahwa AR tersebut dapat memediasi hormon androgen dalam epitel seminiferus untuk memelihara keberlangsungan spermatogenesis (Smith & Walker 2014). Penelitian pada tikus telah menunjukkan bahwa kuantitatif spermatogenesis, seperti yang ditunjukkan oleh sejumlah *germ cells* dibandingkan dengan sel-sel Sertoli, dapat terjadi ketika konsentrasi testosteron

intratestikular dikurangi dari 100 sampai 20 ng/ml. Pada tikus, dosis atau konsentrasi testosteron diperlukan lebih besar untuk memulai spermatogenesis daripada yang dibutuhkan untuk pemeliharaan spermatogenesis, hal ini menunjukkan bahwa ada dua mekanisme yang berbeda dari aksi androgen, mungkin ada di testis tergantung pada status pematangan. Selain itu, penelitian lain menunjukkan bahwa pengikatan testosteron untuk ABP mungkin menempati sebagian dari *intratesticular free T pool* (Knobil & Neill's 2006).

Mempelajari tentang peran androgen dalam spermatogenesis dapat dilakukan dengan berbagai model khususnya untuk mempelajari efek tunggal dari hormon (FSH, LH dan T), konsentrasi dan dampaknya (McLachlan et al. 2002). Verhoeven et al. (2010) melaporkan bahwa hormon utama yang mengontrol perkembangan *germ cell* adalah FSH dan LH. Lebih lanjut dijelaskan bahwa aksi LH pada sel Leydig bertanggungjawab pada konsentrasi testosteron dan menjaga agar spermatogenesis dapat berlangsung dengan normal.

Model yang biasa digunakan diantaranya adalah *hypophysectomy* atau pengangkatan kelenjar hipofisa, *active immunization against GnRH* atau pemberian anti GnRH (Bougnères et al. 2008), penghambatan pelepasan GnRH dengan pemberian GnRH analog, penghambatan pelepasan gonadotropin dengan seks steroid hormon atau penggunaan hewan model transgenik. Hormon ini kemudian diberikan melalui implan (steroid) atau injeksi (gonadotropin). Ketika model ini diterapkan, ternyata secara selektif dapat menghilangkan dan menggantikan dukungan kerja endokrin dalam testis, meskipun dalam aplikasinya diakui bahwa masing-masing model memiliki kekurangan/keterbatasan. Hal ini terlihat pada ablasi hormon-hormon dari pituitari dengan *hypophysectomy*, hambatan yang tidak sempurna pada kedua hormon gonadotropin oleh GnRH antagonis atau *immunization regimes* atau re-inisiasi pelepasan FSH dari hipofisa dengan pemberian androgen eksogen diikuti dengan GnRH *immunization* pada tikus, memberikan informasi kepada kita bahwa efek dari testosteron tidak dapat dipelajari dengan metode isolasi. Kekurangan atau keterbatasan ini harus diperhatikan ketika kita akan mengevaluasi data tentang peran androgen dalam inisiasi dan pemeliharaan spermatogenesis.

Inisiasi spermatogenesis

Spermatogenesis adalah proses kompleks yang dikontrol oleh endokrin dan *regulatory factors* lainnya (Lucas et al. 2011). Spermatogenesis difasilitasi oleh keberadaan hormon-hormon yang lain, tetapi hanya hormon testosteron yang berperan sangat penting dalam memelihara dan menjaga spermatogenesis (Ruwanpura et al. 2010; Alves et al. 2013; Chang et al.

2013). Hal ini menunjukkan bahwa keberadaan hormon androgen sangat penting untuk keberlangsungan spermatogenesis secara normal. Namun demikian, aksi hormon androgen harus dimediasi oleh AR agar dapat berperan untuk menstimulasi perkembangan struktur dan fungsi karakteristik pejantan seperti dalam hal inisiasi dan memelihara spermatogenesis (Handelsman 2009). Hal ini telah dibuktikan oleh Zuccarello et al. (2008) bahwa apabila terjadi mutasi pada gen AR akan berakibat terjadinya gangguan pada spermatogenesis. Lebih lanjut, Haywood et al. (2003) menjelaskan bahwa sel-sel somatik (sel-sel Sertoli) berperan penting dalam mengontrol perkembangan *germ cell*. Peran androgen dalam inisiasi spermatogenesis telah lama dipelajari dengan menggunakan hewan model tikus yang mengalami kelainan (>95%) di GnRH, tetapi dengan saluran reproduksi yang utuh atau yang lebih dikenal dengan sebutan *hypogonadal* (hpg) *mouse*. Spermatogenesis pada tikus yang menderita hpg dicirikan dengan berkurangnya jumlah sel Sertoli, yang memiliki *immature nuclear morphology* dan beberapa sel spermatogonia (60-70% dari jumlah sel Sertoli) dan spermatosit dengan spermatosit pada tahap *pachytene* yang menjadi *germ cell* matang yang dapat terlihat. Penelitian dengan hewan model ini menunjukkan bahwa *qualitatively complete spermatogenesis* dapat diinisiasi dengan pemberian testosteron eksogen tunggal. Selain itu, spermatogenesis dapat juga diinisiasi oleh DHT yang tidak dapat dimetabolisme menjadi estrogen, hal ini menunjukkan bahwa efek dari testosteron dimediasi melalui AR (Knobil & Neill's 2006).

Pentingnya sel Sertoli sebagai modulator efek androgenik pada *germ cells* selama inisiasi spermatogenesis telah dibuktikan pada tikus yang mengalami kekurangan AR pada sel Sertoli, dengan menggunakan *Cre-Lox conditional knockout strategy* (De Gendt et al. 2004). Chang et al. (2004) melaporkan bahwa pada tikus yang kekurangan AR hanya dalam sel Sertoli (SC-AR) menunjukkan penurunan fungsi testis yang normal dan perkembangan saluran urogenital. Lebih lanjut, Edelsztejn et al. (2016) melaporkan bahwa ekspresi AR-SC di bawah kontrol hormon anti-Mullerian. Konsentrasi hormon anti-Mullerian yang rendah dalam sistem sirkulasi akan menyebabkan gangguan fungsi testis seperti *cryptorchidism*, *monorchidism* dan *central hypogonadism*. Setelah pubertas, SC-AR *knockouts* menunjukkan bahwa spermatogenik tertahan pada tahap spermatosit/spermatid akhir, dengan dimulainya meiosis pada *germ cells*, tetapi blok tetap terjadi pada tahap spermatosit *diplotene* (Chang et al. 2004). Oleh karena itu, AR pada sel Sertoli merupakan syarat mutlak untuk keberlangsungan pembelahan meiosis dan spermiogenesis.

Proliferasi dan maturasi sel Sertoli

Follicle stimulating hormone diketahui berperan dalam mengontrol proliferasi sel Sertoli yang mengakibatkan terjadinya peningkatan volume testis, sedangkan testosteron dalam beberapa penelitian menunjukkan bahwa mungkin terlibat dalam memodulasi diferensiasi sel Sertoli (Kouri-Hänninen et al. 2011). Lebih lanjut dilaporkan bahwa testosteron bekerjasama dengan hormon tiroid dan asam retinoat terlibat dalam merangsang diferensiasi sel Sertoli melalui efek pada regulator siklus sel. Rahman & Christian (2007) menjelaskan bahwa regulasi fungsi fisiologis sel Sertoli diatur oleh keberadaan hormon testosteron. Chemes et al. (2008) dan Willems et al. (2010) melaporkan bahwa AR diketahui diekspresikan pada sel Sertoli dewasa. Walaupun demikian, pada hewan pengerat dan tikus ekspresi AR telah dimulai 3-5 hari setelah kelahiran dan pada manusia dimulai pada umur empat tahun dan akan meningkat secara signifikan sampai pada umur delapan tahun. Hal ini membuktikan bahwa pada fetus dan hewan yang baru dilahirkan belum respon terhadap keberadaan hormon androgen intratestiskular yang tinggi. Hal senada juga dilaporkan oleh Grinspon et al. (2013) bahwa pada fetus dan hewan yang baru dilahirkan tidak menunjukkan adanya perubahan maturasi pada sel-sel Sertoli meskipun produksi androgen testis aktif, hal ini disebabkan karena AR pada sel-sel Sertoli belum diekspresikan.

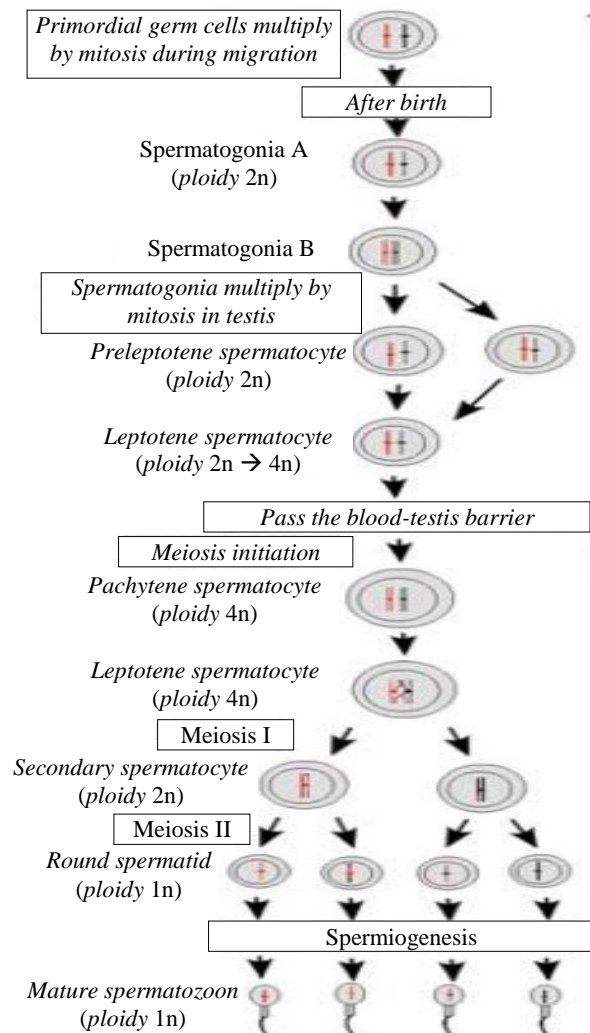
Peran utama testosteron dalam proses proliferasi sel Sertoli telah dibuktikan pada tikus dewasa yang di hpg dengan pemberian testosteron eksogen menunjukkan bahwa nukleus sel Sertoli berdiferensiasi pada umur 21 hari (Haywood et al. 2003) dan kekurangan FSH-R menunjukkan bahwa testosteron tanpa adanya FSH dapat menginduksi diferensiasi sel Sertoli. Pemberian testosteron pada tikus hpg pada umur 21 hari menunjukkan peningkatan yang signifikan dalam jumlah sel Sertoli, hal ini menunjukkan bahwa testosteron dapat menjadi mitogen untuk proliferasi sel Sertoli (Haywood et al. 2003). Di lain pihak, Lasala et al. (2011) melaporkan bahwa kurangnya stimulasi FSH selama fetus dan hewan yang baru dilahirkan menyebabkan penurunan jumlah sel Sertoli. Lebih lanjut, Bastida et al. (2007) dan Aksglaede et al. (2011) melaporkan bahwa *anti-Mullerian hormone* (AMH) berkorelasi dengan inhibin B dan FSH berperan untuk mempertahankan fungsi sel Sertoli sampai pada tahap pubertas. Hal yang sama dilaporkan oleh Grinspon et al. (2016) bahwa meskipun konsentrasi FSH tinggi tetapi konsentrasi AMH rendah mengakibatkan proliferasi dan fungsi sel Sertoli tidak akan berlangsung sempurna. Meskipun demikian, konsentrasi AMH tidak bergantung pada konsentrasi testosteron (Bergadá et al. 2007). Hal ini menunjukkan

bahwa testosteron bukan satu-satunya faktor utama yang dapat mengendalikan proliferasi sel Sertoli. Faktor lain yang dapat berpengaruh adalah *reactive oxygen species* (ROS). *Reactive oxygen species* dapat menginduksi kematian sel secara *autophagy*, sebuah proses *self-catabolic* yang melibatkan penyerapan komponen sitoplasma dengan melemahkan atau merusak organel-organel sel (Shrivastava et al. 2011). Pada konsentrasi yang tinggi, ROS dapat menyebabkan kerusakan DNA akibat gangguan pada membran mitokondria (Rocha-Frigoni et al. 2016). Akibat dari sifatnya yang sangat reaktif dan tidak stabil, ROS dapat berinteraksi dengan beberapa molekul untuk mengikat elektron dan membuat dirinya stabil (Deleuze & Goudet 2010). Oleh karena itu, interaksi tersebut pada akhirnya menyebabkan kerusakan sel termasuk peroksidasi lipid, yang merupakan fosfolipid utama pada membran, serta oksidasi asam amino dan juga asam nukleat (Bain et al. 2011).

Perkembangan germ cell

Sel somatik (sel Sertoli) memegang peran penting dalam mengontrol perkembangan *germ cell*. Lebih lanjut dijelaskan bahwa androgen merupakan faktor utama dalam mendukung perkembangan *germ cell* pejantan dan sel Sertoli merupakan target utama untuk aksi hormon androgen (Verhoeven et al. 2010). Beberapa laporan menunjukkan bahwa testosteron dan FSH bertindak sebagai *germ cell survival factor* selama inisiasi spermatogenesis (Walker 2011). Dalam testis tikus *immature*, *selective immunoneutralization* LH dapat mengganggu spermatogenesis dan menyebabkan kematian sel (apoptosis), terutama pada tahap *pachytene spermatocytes*, tetapi tidak pada sel spermatogonium. Tahapan perkembangan *germ cell* secara lengkap disajikan pada Gambar 2.

Androgen diketahui penting untuk pemeliharaan viabilitas *germ cell*. Lebih lanjut dilaporkan bahwa testosteron diperlukan untuk penyelesaian spermiogenesis pada tikus pubertas. Pemberian *ethane dimethanesulphonate* (EDS) pada sel Leydig dapat menyebabkan penurunan sementara konsentrasi testosteron dalam cairan interstitial dan pada tahap VII-IX spermatid bundar dari epitelium (Walker 2011). Penelitian lebih lanjut menunjukkan bahwa secara kolektif androgen sangat aktif terlibat dalam inisiasi spermatogenesis pada hewan model dengan cara bertindak sebagai *germ cell survival factor* dan bekerjasama dengan FSH dalam mendukung terjadinya spermiogenesis.



Gambar 2. Perkembangan *germ cells* sampai membentuk spermatozoa matang

Sumber: Wang et al. (2009)

Spermatogonia

Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa testosteron atau faktor-faktor sel Leydig yang diperlukan untuk perkembangan sel spermatogonium. Pada tikus hpg, efek tunggal testosteron tidak merangsang jumlah sel spermatogonium seperti yang terlihat pada tikus yang tidak diberi hpg dan pada tikus yang diberi perlakuan testosteron dalam jangka panjang tidak mempengaruhi perkembangan sel spermatogonium (Haywood et al. 2003). Tingginya konsentrasi testosteron dalam testis diduga dapat berpengaruh jelek terhadap perkembangan sel

spermatogonium. Hal ini didukung oleh hasil penelitian yang lain seperti terjadinya deplesi sel spermatogonium *juvenile*, tikus mutan dan tikus yang telah diiradiasi, ini menunjukkan bahwa penekanan konsentrasi testosteron dalam testis diperlukan untuk mendukung perkembangan sel spermatogonium. Lebih lanjut dijelaskan bahwa penurunan sementara konsentrasi testosteron dalam testis melalui pemberian GnRH-antagonis dapat meningkatkan kemampuan donor sel spermatogonium untuk ditransplantasikan ke testis hewan resipien. Hal yang berbeda dilaporkan oleh (Verhoeven et al. 2010) bahwa salah satu tahapan perkembangan *germ cell* adalah diferensiasi spermatogonium sebagai akibat dari kontrol aksi hormon androgen.

Meiosis dan spermiogenesis

Peran utama androgen adalah dalam meiosis dan spermiogenesis (Stanton et al. 2012). Meiosis selama awal spermatogenesis tampaknya sangat sensitif terhadap testosteron yang teramati pada tikus hpg. Tikus yang diberikan testosteron eksogen mengakibatkan konsentrasi testosteron intratestikular meningkat 40% dari normal, sehingga mendukung meiosis dari *preleptotene* menjadi spermatosit *pachytene*. Efek tunggal testosteron dapat memfasilitasi penyelesaian meiosis pada tikus hpg, hal ini dibuktikan pada proses produksi spermatid bundar dari *pachytene spermatocytes* (Haywood et al. 2003). Lebih lanjut Abel et al. (2008) melaporkan bahwa FSHR dan AR menginisiasi meiosis, tetapi selesainya meiosis sangat bergantung pada ekspresi AR. Walters et al. (2010) menjelaskan bahwa inaktivasi gen AR dapat mengakibatkan gangguan spermatogenesis terutama mengganggu pada penyelesaian meiosis.

Dimulainya meiosis dapat dilihat dengan jelas pada tikus hpg sebagai efek dari pemberian hormon testosteron eksogen. Suatu penghambatan pada meiosis tidak jelas diketahui pada berbagai hewan model dengan penggunaan implan testosteron untuk menekan spermatogenesis, konsentrasi testosteron intratestikular tidak cukup untuk menekan terjadinya spermatogenesis. Akan tetapi, perkembangan spermatosit tahap VII dan VIII akan menurun ketika konsentrasi testosteron intratestikular ditekan dengan menggunakan kombinasi gonadotropin dengan *anti-androgen flutamide* untuk menghilangkan pengaruh sisa dari androgen. Dengan demikian, ada kemungkinan bahwa hormon androgen memfasilitasi perkembangan meiosis setidaknya sebagian dengan mendukung kelangsungan hidup spermatosit pada tahap VII dan VIII yang merupakan tahapan yang sangat sensitif terhadap keberadaan hormon (Verhoeven et al. 2010).

Testosteron memiliki *specific site* dalam hal menginisiasi (Haywood et al. 2003), memelihara dan

pemulihan atau restorasi dari semua fase spermiogenesis. Penelitian pada tikus hpg menunjukkan bahwa testosteron tunggal dapat memulai atau menginisiasi dan memelihara produksi spermatid bundar dari *pachytene spermatocytes*. Sedangkan penelitian pada tikus dewasa telah menemukan suatu tempat tertentu dalam spermiogenesis di mana testosteron diperlukan. Penelitian selanjutnya telah menunjukkan bahwa penekanan testosteron intratesticular dapat mempengaruhi konversi spermatid bundar dari tahap VII ke tahap VIII yang disebabkan karena terjadinya prematur pada spermatid bundar pada tahap VIII. Penelitian lebih lanjut pada tikus yang kekurangan LH-R, yang memiliki konsentrasi testosteron dalam testis hanya 2% dari normal, menunjukkan bahwa konversi spermatid bundar untuk menjadi spermatid yang memanjang dapat dihilangkan dengan pemberian AR antagonist flutamide. Hal ini menunjukkan bahwa pada pertengahan spermiogenesis hanya membutuhkan konsentrasi testosteron yang sangat rendah (Zhang et al. 2003).

Pelekatan antara sel Sertoli dan sel spermatid bundar tahap VIII diatur oleh keberadaan hormon androgen. Namun demikian, penekanan androgen tampaknya tidak mengganggu struktur spesialisasi *ectoplasmic*, yang merupakan suatu *Sertoli cell-specific junctional complex*. Molekul pelekatan sel yang dapat terlibat dalam *round spermatid-Sertoli cell junction* termasuk diantaranya adalah $\alpha 6 \beta 1$ integrin dan anggota dari *cadherin* dan kelompok *protocadherin*. Penelitian secara *in vitro* menunjukkan bahwa N-cadherin mungkin penting, sebagai suatu antibodi N-cadherin yang akan memblokir *androgen-stimulated adhesion* antara sel-sel Sertoli tikus dan spermatid bundar yang terisolasi dan N-Cad yang diproduksi oleh sel Sertoli secara *in vitro* distimulasi oleh androgen (Knobil & Neill's 2006).

Peran androgen pada fertilitas pejantan

Hormon androgen terutama testosteron dan DHT yang dihasilkan oleh sel-sel Leydig testis berperan sangat penting untuk memelihara spermatogenesis (Smith & Walker 2014). Testosteron dan DHT berperan dalam spermatogenesis dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya adalah keberadaan AR (Bansal et al. 2015), LH (Dong et al. 2007) dan FSH. Androgen reseptor memediasi testosteron dan DHT baik pada *germ cells*, sel Sertoli, sel Leydig maupun *peritubular myoid cells* dari testis (Rey et al. 2009; Welsh et al. 2009; Hazra et al. 2013). Smith & Walker (2014) melaporkan bahwa konsentrasi AR yang tinggi mengindikasikan bahwa AR tersebut dapat memediasi hormon androgen dalam epitel seminiferus untuk memelihara keberlangsungan spermatogenesis. Lebih lanjut dijelaskan bahwa LH yang disekresikan oleh

hipofisa anterior berperan untuk mengontrol perkembangan *germ cell* dan menstimulasi sel Leydig untuk memproduksi testosteron (Collins et al. 2003; Dong et al. 2007; Verhoeven et al. 2010). Sedangkan FSH selain berperan untuk mengontrol perkembangan *germ cell* bersama dengan LH juga berperan untuk mestimulasi ekspresi AR dan mengontrol proliferasi dan mempertahankan fungsi sel Sertoli (Aksglaede et al. 2011; Kuiri-Hänninen et al. 2011).

Berdasarkan penjelasan di atas menunjukkan bahwa keberadaan AR, LH dan FSH sangat mempengaruhi fungsi testosteron dan DHT yang berdampak pada fertilitas pejection. Konsentrasi AR yang rendah dapat mengakibatkan AR tidak dapat memediasi hormon androgen sehingga akan mengganggu keberlangsungan spermatogenesis. Hal yang sama juga dapat terjadi ketika konsentrasi LH dan FSH rendah. Konsentrasi LH dan FSH yang rendah akan mengakibatkan perkembangan *germ cell* tidak terkontrol dan stimulasi sel Leydig untuk memproduksi testosteron juga terganggu sehingga berakibat pada rendahnya fertilitas pejection. Konsentrasi AR, LH dan FSH yang rendah dapat diatasi dengan pemberian GnRH eksogen. Collins et al. (2003) menjelaskan bahwa GnRH menstimulasi hipofisa anterior untuk mensekresikan LH dan FSH yang selanjutnya akan menstimulasi sel Leydig mensekresikan testosteron. Testosteron membantu dalam proses pembentukan spermatozoa, mempersiapkan dan memelihara *germ cells*, memelihara sel Leydig, serta menstimulasi PC untuk kontraksi *tubulus seminiferus*. Selain itu, dapat pula dilakukan pemberian LH, FSH dan testosteron eksogen baik melalui implan maupun injeksi sehingga dapat meningkatkan fertilitas pejection.

KESIMPULAN

Peran hormon androgen dalam regulasi spermatogenesis sangat dipengaruhi oleh keberadaan AR, konsentrasi *luteinizing hormone* (LH) dan *follicle stimulating hormone* (FSH). Terganggunya spermatogenesis akan menyebabkan rendahnya fertilitas pejection. Pemberian *gonadotrophine releasing hormone* (GnRH), LH, FSH dan testosteron eksogen sehingga dapat meningkatkan fertilitas pejection.

DAFTAR PUSTAKA

- Abel MH, Baker PJ, Charlton HM, Monteiro A, Verhoeven G, De Gendt K, Guillou F, O'Shaughnessy PJ. 2008. Spermatogenesis and Sertoli cell activity in mice lacking Sertoli cell receptors for follicle-stimulating hormone and androgen. *Endocrinology*. 149:3279-3285.
- Aksglaede L, Christiansen P, Sørensen K, Boas M, Linneberg A, Main KM, Andersson AM, Skakkebaek NE, Juul A. 2011. Serum concentrations of anti-Mullerian hormone (AMH) in 95 patients with Klinefelter syndrome with or without cryptorchidism. *Acta Paediatr Int J Paediatr*. 100:839-845.
- Alves MG, Rato L, Carvalho RA, Moreira PI, Socorro S, Oliveira PF. 2013. Hormonal control of Sertoli cell metabolism regulates spermatogenesis. *Cell Mol Life Sci*. 70:777-793.
- Aquila S, Middea E, Catalano S, Marsico S, Lanzino M, Casaburi I, Barone I, Bruno R, Zupo S, Andò S. 2007. Human sperm express a functional androgen receptor: Effects on PI3K/AKT pathway. *Hum Reprod*. 22:2594-2605.
- Bain NT, Madan P, Betts DH. 2011. The early embryo response to intracellular reactive oxygen species is developmentally regulated. *Reprod Fertil Dev*. 23:561-575.
- Bansal N, Pathak D, Uppal V, Anuradha, Singh I. 2015. Androgen receptor in buffalo testis during prenatal life: An immunohistochemical study. *Indian J Vet Anat*. 27:6-8.
- Bastida MG, Rey RA, Bergadá I, Bedecarrás P, Andreone L, Del Rey G, Boywitt A, Ropelato MG, Cassinelli H, Arcari A, et al. 2007. Establishment of testicular endocrine function impairment during childhood and puberty in boys with Klinefelter syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 67:863-870.
- Bergadá I, Andreone L, Ropelato MG, Bedecarrás P, Rey RA, Campo SM. 2007. Sertoli cell function in boys with central precocious puberty (CPP). *Horm Res*. 68:3.
- Bougnères P, François M, Pantalone L, Rodrigue D, Bouvattier C, Demesteere E, Roger D, Lahlou N. 2008. Effects of an early postnatal treatment of hypogonadotropic hypogonadism with a continuous subcutaneous infusion of recombinant follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone. *J Clin Endocrinol Metab*. 93:2202-2205.
- Boukari K, Meduri G, Brailly-Tabard S, Guibourdenche J, Ciampi ML, Massin N, Martinerie L, Picard JY, Rey R, Lombès M, Young J. 2009. Lack of androgen receptor expression in sertoli cells accounts for the absence of anti-Mullerian hormone repression during early human testis development. *J Clin Endocrinol Metab*. 94:1818-1825.
- Bourguiba S, Lambard S, Carreau S. 2003. Steroids control the aromatase gene expression in purified germ cells from the adult male rat. *J Mol Endocrinol*. 31:83-94.
- Brinkmann AO. 2009. *Androgen physiology: Receptor and metabolic disorders*. Rotterdam (Netherlands): University Medical Center Rotterdam.
- Chang C, Chen YT, Yeh SD, Xu Q, Wang RS, Guillou F, Lardy H, Yeh S. 2004. Infertility with defective spermatogenesis and hypotestosteronemia in male mice lacking the androgen receptor in Sertoli cells. *Proc Natl Acad Sci*. 101:6876-6881.

- Chang C, Lee SO, Wang RS, Yeh S, Chang TM. 2013. Androgen receptor (AR) physiological roles in male and female reproductive systems: Lessons learned from AR-knockout mice lacking AR in selective cells. *Biol Reprod.* 89:1-16.
- Chemes HE, Rey RA, Nistal M, Regadera J, Musse M, Gonzalez-Peramato P, Serrano A. 2008. Physiological androgen insensitivity of the fetal, neonatal, and early infantile testis is explained by the ontogeny of the androgen receptor expression in Sertoli cells. *J Clin Endocrinol Metab.* 93:4408-4412.
- Collins LL, Lee HJ, Chen YT, Chang M, Hsu HY, Yeh S, Chang C. 2003. The androgen receptors in spermatogenesis. *Cytogenet Genome Res.* 103:299-301.
- De Gendt K, Swinnen JV, Saunders PTK, Schoonjans L, Dewerchin M, Devos A, Tan K, Atanassova N, Claessens F, Lecureuil C, et al. 2004. A Sertoli cell-selective knockout of the androgen receptor causes spermatogenic arrest in meiosis. *Proc Natl Acad Sci.* 101:1327-1332.
- Deleuze S, Goudet G. 2010. Cysteamine supplementation of *in vitro* maturation media: A review. *Reprod Domest Anim.* 45:e476-e482.
- Dong L, Jelinsky SA, Finger JN, Johnston DS, Kopf GS, Sottas CM, Hardy MP, Ge RS. 2007. Gene expression during development of fetal and adult Leydig cells. In: *Annals of the New York Academy of Sciences.* Vol. 1120. p. 16-35.
- Eacker SM, Shima JE, Connolly CM, Sharma M, Holdcraft RW, Griswold MD, Braun RE. 2007. Transcriptional profiling of androgen receptor (AR) mutants suggests instructive and permissive roles of AR signaling in germ cell development. *Mol Endocrinol.* 21:895-907.
- Edelsztein NY, Grinspon RP, Shteingart HF, Rey RA. 2016. Anti-Mullerian hormone as a marker of steroid and gonadotropin action in the testis of children and adolescents with disorders of the gonadal axis. *Int J Pediatr Endocrinol.* 20:1-10.
- Grinspon RP, Andreone L, Bedecarrás P, Ropelato MG, Rey RA, Campo SM, Bergadá I. 2013. Male central precocious puberty: Serum profile of anti-Mullerian hormone and inhibin B before, during, and after treatment with GnRH analogue. *Int J Endocrinol [Internet].* 2013. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/ije/2013/823064/>
- Grinspon RP, Habib C, Bedecarrás P, Gottlieb S, Rey RA. 2016. Compensatory function of the remaining testis is dissociated in boys and adolescents with monorchidism. *Eur J Endocrinol.* 174:399-407.
- Grinspon RP, Ropelato MG, Bedecarrás P, Loreti N, Ballerini MG, Gottlieb S, Campo SM, Rey RA. 2012. Gonadotrophin secretion pattern in anorchid boys from birth to pubertal age: pathophysiological aspects and diagnostic usefulness. *Clin Endocrinol.* 76:698-705.
- Handelsman DJ. 2009. Androgen physiology, pharmacology and abuse. In: De Groot LJ, Jameson JL, editors. *Endocrinology.* 6th ed. Philadelphia (US): Elsevier Saunders Publications.
- Haywood M, Spaliviero J, Jimenez M, King NJC, Handelsman DJ, Allan CM. 2003. Sertoli and germ cell development in hypogonadal (hpg) mice expressing transgenic follicle-stimulating hormone alone or in combination with testosterone. *Endocrinology.* 144:509-517.
- Hazra R, Corcoran L, Robson M, McTavish KJ, Upton D, Handelsman DJ, Allan CM. 2013. Temporal role of Sertoli cell androgen receptor expression in spermatogenic development. *Mol Endocrinol.* 27:12-24.
- Hill CM, Anway MD, Zirkin BR, Brown TR. 2004. Intratesticular androgen levels, androgen receptor localization, and androgen receptor expression in adult rat Sertoli cells. *Biol Reprod.* 71:1348-1358.
- Ivell R, Wade JD, Anand-Ivell R. 2013. INSL3 as a biomarker of Leydig cell functionality. *Biol Reprod.* 88:1-8.
- Johnson L, Thompson DL, Varner DD. 2008. Role of Sertoli cell number and function on regulation of spermatogenesis. *Anim Reprod Sci.* 105:23-51.
- Kerkhofs S, Denayer S, Haelens A, Claessens F. 2009. Androgen receptor knockout and knock-in mouse models. *J Mol Endocrinol.* 42:11-17.
- Knobil, Neill's. 2006. *Physiology of reproduction.* California (US): Elsevier Academic Press.
- Kuiri-Hänninen T, Seuri R, Tyrväinen E, Turpeinen U, Hämäläinen E, Stenman UH, Dunkel L, Sankilampi U. 2011. Increased activity of the hypothalamic-pituitary-testicular axis in infancy results in increased androgen action in premature boys. *J Clin Endocrinol Metab.* 96:98-105.
- Lasala C, Shteingart HF, Arouche N, Bedecarrás P, Grinspon RP, Picard J-Y, Josso N, di Clemente N, Rey RA. 2011. SOX9 and SF1 are involved in cyclic AMP-mediated upregulation of anti-Mullerian gene expression in the testicular prepubertal Sertoli cell line SMAT1. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 301:E539-E547.
- Lucas TF, Pimenta MT, Pisolato R, Lazari MFM, Porto CS. 2011. 17 β -estradiol signaling and regulation of Sertoli cell function. *Spermatogenesis.* 1:318-324.
- McLachlan RI, O'Donnell L, Meachem SJ, Stanton PG, de Kretser DM, Pratis K, Robertson DM. 2002. Identification of specific sites of hormonal regulation in spermatogenesis in rats, monkeys, and man. *Recent Prog Horm Res.* 57:149-179.
- Merlet J, Racine C, Moreau E, Moreno SG, Habert R. 2007. Male fetal germ cells are targets for androgens that physiologically inhibit their proliferation. *Proc Natl Acad Sci.* 104:3615-3620.

- Rahman F, Christian HC. 2007. Non-classical actions of testosterone: An update. *Trends Endocrinol Metab.* 18:371-378.
- Rathkopf D, Scher HI. 2013. Androgen receptor antagonists in castration-resistant prostate cancer. *Cancer J.* 19:43-49.
- Rey RA, Musse M, Venara M, Chemes HE. 2009. Ontogeny of the androgen receptor expression in the fetal and postnatal testis: Its relevance on Sertoli cell maturation and the onset of adult spermatogenesis. *Microsc Res Tech.* 72:787-795.
- Rocha-Frigoni NAS, Leão BCS, Dall'Acqua PC, Mingoti GZ. 2016. Improving the cytoplasmic maturation of bovine oocytes matured *in vitro* with intracellular and/or extracellular antioxidants is not associated with increased rates of embryo development. *Theriogenology.* 86:1897-1905.
- Ruwanpura SM, McLachlan RI, Meachem SJ. 2010. Hormonal regulation of male germ cell development. *J Endocrinol.* 205:117-131.
- Shrivastava A, Kuzontkoski PM, Groopman JE, Prasad A. 2011. Cannabidiol induces programmed cell death in breast cancer cells by coordinating the cross-talk between apoptosis and autophagy. *Mol Cancer Ther.* 10:1161-1172.
- Smith LB, Walker WH. 2014. The regulation of spermatogenesis by androgens. *Semin Cell Dev Biol.* 30:2-13.
- Stanton PG, Sluka P, Foo CFH, Stephens AN, Smith AI, McLachlan RI, O'Donnell L. 2012. Proteomic changes in rat spermatogenesis in response to *in vivo* androgen manipulation; impact on meiotic cells. *PLoS One.* 7:e41718.
- Verhoeven G, Willems A, Denolet E, Swinnen JV, De Gendt K. 2010. Androgens and spermatogenesis: Lessons from transgenic mouse models. *Philos Trans R Soc.* 365:1537-1556.
- Walker WH. 2011. Testosterone signaling and the regulation of spermatogenesis. *Spermatogenesis.* 1:116-120.
- Walters KA, Simanainen U, Handelsman DJ. 2010. Molecular insights into androgen actions in male and female reproductive function from androgen receptor knockout models. *Hum Reprod Update.* 16:543-558.
- Wang RS, Yeh S, Tzeng CR, Chang C. 2009. Androgen receptor roles in spermatogenesis and fertility: Lessons from testicular cell-specific androgen receptor knockout mice. *Endocr Rev.* 30:119-132.
- Welsh M, Saunders PTK, Atanassova N, Sharpe RM, Smith LB. 2009. Androgen action via testicular peritubular myoid cells is essential for male fertility. *FASEB J.* 23:4218-4230.
- Willems A, De Gendt K, Allemeersch J, Smith LB, Welsh M, Swinnen JV., Verhoeven G. 2010. Early effects of Sertoli cell-selective androgen receptor ablation on testicular gene expression. *Int J Androl.* 33:507-517.
- Xu Q, Lin HY, Yeh SD, Yu IC, Wang RS, Chen YT, Zhang C, Altuwajri S, Chen LM, Chuang KH, et al. 2007. Infertility with defective spermatogenesis and steroidogenesis in male mice lacking androgen receptor in Leydig cells. *Endocrine.* 32:96-106.
- Zhang FP, Pakarainen T, Poutanen M, Toppari J, Huhtaniemi I. 2003. The low gonadotropin-independent constitutive production of testicular testosterone is sufficient to maintain spermatogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 100:13692-13697.
- Zhang L, Charron M, Wright WW, Chatterjee B, Song CS, Roy AK, Brown TR. 2004. Nuclear factor-kappaB activates transcription of the androgen receptor gene in Sertoli cells isolated from testes of adult rats. *Endocrinology.* 145:781-789.
- Zhou X. 2010. Roles of androgen receptor in male and female reproduction: Lessons from global and cell-specific androgen receptor knockout (ARKO) mice. *J Androl.* 31:235-243.
- Zuccarello D, Ferlin A, Vinanzi C, Prana E, Garolla A, Callewaert L, Claessens F, Brinkmann AO, Foresta C. 2008. Detailed functional studies on androgen receptor mild mutations demonstrate their association with male infertility. *Clin Endocrinol (Oxf).* 68:580-588.