

ROLA POŁĄCZEŃ MIĘDZYKOMÓRKOWYCH I REGULACJA ICH FUNKCJONOWANIA W GONADZIE MĘSKIEJ SSAKÓW

THE ROLE OF THE CELL JUNCTIONS AND REGULATION
OF THEIR FUNCTION IN MAMMALIAN TESTIS

Ilona KOPERA-SOBOTA, Barbara BILIŃSKA

Zakład Endokrynologii, Instytut Zoologii, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

Streszczenie: Spermatogeneza jest złożonym procesem, który obejmuje szereg zdarzeń komórkowych i biochemicznych prowadzących do wytworzenia haploidalnych spermatyd z diploidalnych spermatogoniów. Prawidłowe różnicowanie komórek germinalnych wymaga precyzyjnej regulacji endokrynej obejmującej działanie gonadotropin i hormonów steroidowych oraz lokalnej kontroli przez czynniki parakrynowe i autokrynowe. Podczas spermatogenezy niezbędne są również oddziaływania pomiędzy komórkami gonady poprzez wyspecjalizowane połączenia międzykomórkowe. Struktury te odpowiedzialne są za komunikację pomiędzy komórkami i koordynację procesów metabolicznych. Połączenia międzykomórkowe pośredniczą również w stabilnej adhezji międzykomórkowej oraz zapewniają optymalne środowisko dla różnicowania komórek germinalnych i ich migracji w nabłonku plemnikotwórczym. W niniejszej pracy przedstawiono przegląd najnowszych badań wskazujących znaczenie połączeń międzykomórkowych w gonadzie męskiej oraz ich funkcję podczas spermatogenezy. Ponadto, omówiono rolę androgenów w regulacji dynamiki zmian strukturalnych połączeń międzykomórkowych w jądrze.

Słowa kluczowe: połączenia międzykomórkowe, gonada męska, bariera krew-jądro, specjalizacje powierzchniowe, androgeny.

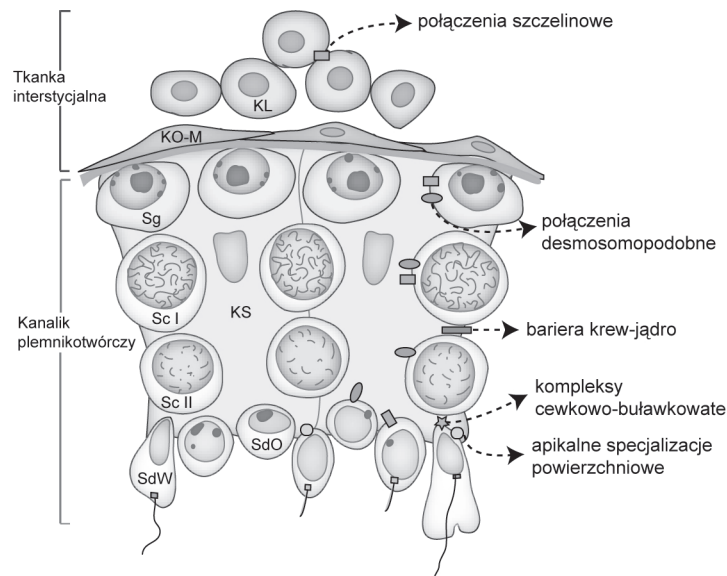
Abstract: Spermatogenesis is a very complex process that involves an array of cellular and biochemical events, collectively culminating in the formation of haploid spermatids from diploid spermatogonia. It is widely accepted that germ cell differentiation requires endocrine regulation by gonadotropins and steroid hormones, a local control through paracrine/autocrine factors, and, importantly, cell-cell interactions via specialized cell junctions. These structures participate in the intercellular communication and coordination of cell metabolism. Moreover, cell junctions are known to mediate stable adhesion throughout spermatogenesis and create a specialized environment necessary for germ cell development and movement. The purpose of this review was to demonstrate the molecular structure of testicular cell junctions and their involvement in the regulation of spermatogenesis. Moreover, we discussed recent findings relating to the role of androgens in the regulation of cell junction dynamics in testis.

Key words: cell junctions, testis, blood-testis barrier, ectoplasmic specialization, androgens.

1. WSTĘP

Dla prawidłowego przebiegu procesu spermatogenezy niezbędna jest regulacja endokrynną realizowana przez wielopoziomowy system określany jako oś podwzgórze-przysadka-jądro [79] oraz komunikacja parakrynną i autokrynną poprzez liczne produkowane lokalnie czynniki białkowe [50]. Istotne znaczenie mają również interakcje międzykomórkowe zapewnione przez specyficzne białka adhezyjne tworzące wyspecjalizowane połączenia pomiędzy sąsiadującymi komórkami Sertoliego lub między komórkami Sertoliego i germinalnymi (ryc. 1).

Połączenia te zapewniają integralność nabłonka plemnikotwórczego, a dzięki intensywnej przebudowie umożliwiają równocześnie przemieszczanie się komórek germinalnych w kanaliku plemnikotwórczym. W nabłonku plemnikotwórczym, podobnie jak w innych nabłonkach, zidentyfikowano trzy typy połączeń międzykomórkowych, które odpowiadają za adhezję oraz komunikację międzykomórkową. Są to połączenia ściśle zamykające (*ang. tight junctions*), połączenia zakotwiczkujące lub zwierające (*ang. anchoring junctions*) oraz połączenia komunikacyjne (*ang. communicating junctions*). Niektóre z tych połączeń tworzą barierę krew-jądro (BTB,



RYCINA 1. Struktura jądra z uwzględnieniem poszczególnych etapów różnicowania komórek germinalnych oraz różnych typów połączeń międzykomórkowych w nabłonku plemnikotwórczym i tkance interstycjalnej. KS – komórka Sertoliego, KO-M – komórka okołokanalikowa-mioidalna, KL – komórka Leydiga, Sg – spermatogonium, Sc I – spermatocyt pierwszego rzędu, Sc II – spermatocyt drugiego rzędu, SdO – spermatyda okrągła, SdW – spermatyda wydłużona.

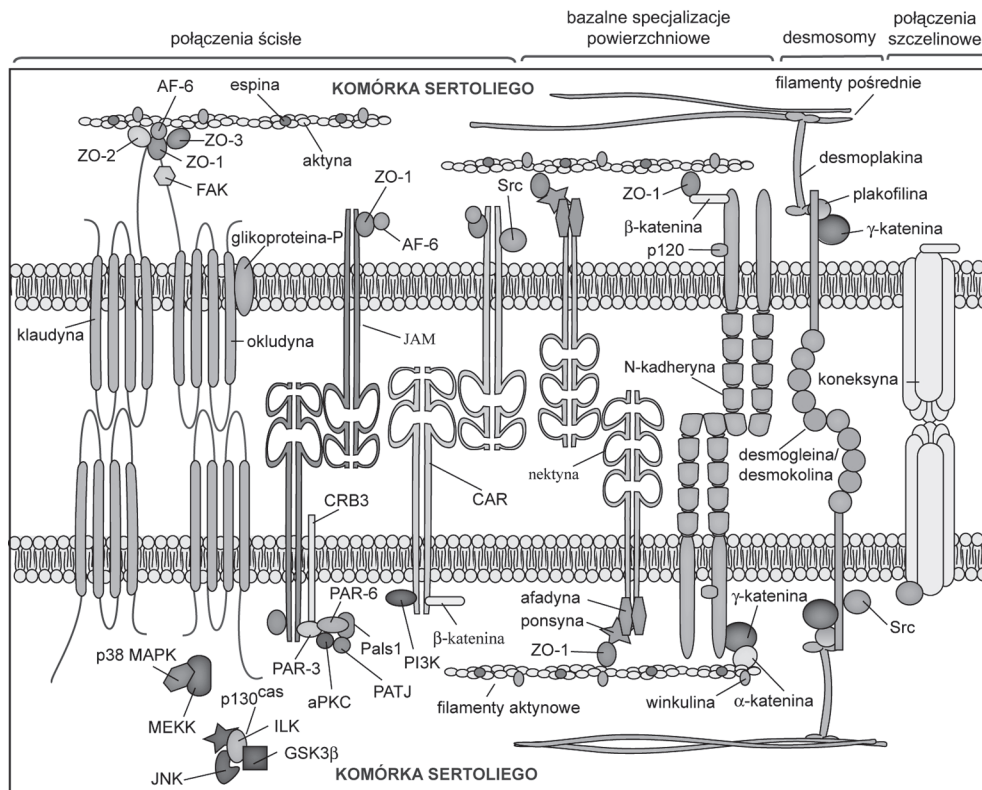
FIGURE 1. Testicular structure with schematic representation of different stages of germ-cell development and different junction types in seminiferous epithelium and interstitial tissue. KS – Sertoli cell, KO-M – peritubular-myoid cell, KL – Leydig cell, Sg – spermatogonium, Sc I – primary spermatocyte, Sc II – secondary spermatocyte, SdO – round spermatid, SdW – elongated spermatid.

ang. blood-testis barrier), która wykazuje szereg specyficznych dla jądra cech, różniących ją od barier tkankowych występujących w innych narządach. Ponadto, w jądrze występują typy połączeń międzykomórkowych, które charakteryzują się unikalnym dla tego narządu składem białkowym, jak specjalizacje powierzchniowe (*ang. ectoplasmic specializations*), połączenia desmosomopodobne (*ang. desmosome-like junctions, desmosome-gap junctions*) oraz kompleksy cewkowo-buławkowate (*ang. tubulobulbar complexes*). Liczne badania podkreślają znaczenie wyspecjalizowanych struktur adhezyjnych w trakcie procesu spermatogenezy [12, 87]. Z uwagi na ogromną różnorodność białek budujących poszczególne typy połączeń międzykomórkowych w gonadzie męskiej, założeniem niniejszej pracy było przedstawienie ich wybranej części. Ponadto, omówiono znaczenie androgenów w regulacji funkcjonowania połączeń międzykomórkowych w jądrze.

2. BARIERA KREW-JĄDRO

W nabłonku plemnikotwórczym komponentę somatyczną stanowią komórki Sertoliego, określane również jako „komórki opiekuńcze spermatogenezy”, które dostarczają strukturalnego oraz odżywczego wsparcia dla różnicujących się komórek germinalnych [40]. Ponadto, komórki Sertoliego współtworzą BTB, nieprzepuszczalną barierę warunkującą postęp spermatogenezy [44]. Bariera krew-jądro, dzięki regulacji przenikania substancji potencjalnie szkodliwych dla spermatogenezy z naczyń krwionośnych do przedziału adluminalnego nabłonka plemnikotwórczego, zapewnia wyspecjalizowane mikrośrodowisko umożliwiające prawidłowe różnicowanie komórek germinalnych. Do prawidłowej funkcji barierowej jądra przyczyniają się komórki endotelialne wyściełające naczynia krwionośne w tkance interstycjalnej oraz komórki okołokanalikowe (mioidalne) wokół kanalików plemnikotwórczych. Jednak główną komponentą i najbardziej szczelnym elementem bariery jest kompleks połączeń międzykomórkowych zlokalizowany pomiędzy sąsiadującymi komórkami Sertoliego [115] (ryc. 1 i 2). Formowanie się tych połączeń związane jest z ostatecznym różnicowaniem komórek Sertoliego i podziałem mejotycznym spermatocytów, co następuje w okresie dojrzewania płciowego.

W kompleksie połączeń BTB wyróżnia się koegzystujące połączenia ścisłe, bazalne specjalizacje powierzchniowe, połączenia desmosomopodobne i połączenia szczelinowe, które wspólnie utrzymują integralność bariery (ryc. 2). Połączenia te dzielą nabłonek plemnikotwórczy strukturalnie i funkcjonalnie na dwa przedziały: przedział bazalny (przypodstawny), w którym znajdują się diploidalne przedmejotyczne komórki germinalne oraz przedział adluminalny (przysrodkowy) zasiedlony przez haploidalne komórki postmejotyczne. Obecność różnorodnych typów połączeń w miejscu BTB jest unikalna dla gonady męskiej. W innych narządach, np. w mózgu, bariery tkankowe są utworzone jedynie przez połączenia ścisłe, a pozostałe typy połączeń międzykomórkowych pozostają w stosunku do nich bez przestrzennego kontaktu [142].



RYCINA 2. Molekularna architektura bariery krew-jądro z uwzględnieniem głównych kompleksów białkowych. Kompleksy te składają się z integralnych białek błonowych, wiążących odpowiednie cytoplazmatyczne białka adaptorowe oraz regulatorowe. Według Cheng i Mruk [13], zmieniłem. AF-6 – białko AF-6 (afadyna); ZO-1, -2, -3 – białko ZO -1, -2, -3; FAK – kinaza FAK; Src – kinaza Src; p120 – katenina p120; CAR – receptor CAR; p38 MAPK – kinaza p38 MAPK

MEKK – kinaza MAP/ERK; cząsteczka sygnalizacyjna szlaku kinazy p38 MAP; JNK – kinaza aktywowana przez stress (SAPK); ILK – kinaza związana z integrzynami; GSK3 α – kinaza syntazy glikogenu 3 α ; p130^{cas} – białko p130^{cas}; aPKC – kinaza aPKC (ang. atypical protein kinase C); aPKC/Par3/Par6 – kompleks Par; CRB3/Pals1/PATJ – kompleks CRB; PI3K – kinaza 3-fosfatydiloizotylo.

FIGURE 2. The molecular architecture of the main protein complexes that formed the BTB. The majority of these complexes is constituted by integral membrane proteins that are associated with its corresponding cytoplasmic adaptors and other regulatory proteins. According to Cheng and Mruk [13], modified. AF-6 – AF-6 protein (afadin; ALL1-fused gene from chromosome 6 protein); ZO-1, -2, -3 – zonula occludens-1, -2, -3; FAK – focal adhesion kinase; Src – protein tyrosine kinase of the transforming gene of Rous sarcoma virus; p120 – p120 catenin; CAR – coxsackievirus and adenovirus receptor; p38 MAPK – p38 mitogen-activated protein kinase; MEKK – MAP/ERK kinase kinases; upstream signaling molecules of p38 MAP kinase; JNK – c-Jun N-terminal protein kinase/stress activated kinase (SAPK); ILK – integrin-linked kinase; GSK3 α – glycogen synthase kinase 3 α ; p130^{cas} – Crk-associated protein; aPKC – atypical protein kinase C; aPKC/Par3/Par6 – Par (partitioning defective) complex; CRB3/Pals1/PATJ – CRB (Crumbs) complex; PI3K – phosphatidylinositol-3-kinase.

Bariera krew-jądro tworzy zaporę oddzielającą różnicujące się postmeiotyczne komórki germinalne od bezpośredniego wpływu substancji obecnych w krążeniu, co w konsekwencji zapewnia barierę immunologiczną chroniącą antygenowo obce haploidalne komórki germinalne przed układem immunologicznym ustroju [44]. Jest

to niezwykle istotne, ponieważ plemniki oraz ich antygeny powierzchniowe pojawiają się na długo po ustaleniu tolerancji antygenów własnych, tak więc zaburzenie funkcji BTB mogłoby prowadzić do produkcji przeciwciał przeciwko plemnikom gospodarza. Dodatkowo, BTB odpowiada za utrzymanie polarności komórek Sertoliego i uczestniczy w kontroli przenikania licznych substancji, takich jak: woda, elektrolity, jony, składniki odżywcze, aminokwasy, hormony i czynniki parakrynowe z tkanki interstycjalnej do wnętrza kanalika plemnikotwórczego oraz w jego obrębie. Podczas spermatogenezy BTB ulega stałej przebudowie aby umożliwić przejście preleptotenywowych spermatocytów do przedziału apikalnego nabłonka [13, 87].

3. POŁĄCZENIA ŚCISŁE

W nabłonku plemnikotwórczym połączenia ścisłe występują jedynie w miejscach kontaktu sąsiadujących komórek Sertoliego w rejonie BTB. Integralnymi białkami błonowymi tych połączeń są kładyny-1, -3, -4, -5, -7, -8, i -11, okludyna, cząsteczki adhezyjne JAM (ang. *junctional adhesion molecules*) oraz receptor CAR (ang. *coxsackievirus and adenovirus receptor*) [87] (ryc. 2).

Kładyny i okludyna są białkami, w budowie których wyróżnia się cztery domeny transbłonowe, dwie pętle zewnątrzkomórkowe i jedną wewnątrzkomórkową oraz domeny N- i C-końcową w części cytoplazmatycznej komórki [14]. Kładyny występujące w miejscu BTB odpowiadają za utrzymanie integralności bariery [80, 85]. U myszy z knockoutem genu kodującego kładynę-11 stwierdzono zaburzony proces dojrzewania komórek Sertoliego i ich zrzucanie do światła kanalików plemnikotwórczych, brak funkcjonalnych pasm połączeń ścisłych między komórkami Sertoliego oraz nasiloną apoptozę komórek germinalnych, co prowadziło do sterylności zwierząt [39, 78]. Natomiast rola jądrowej okludyny pozostaje wciąż dyskusyjna. Knockout genu kodującego to białko wywołuje atrofie kanalików plemnikotwórczych, obecność w kanaliku jedynie komórek Sertoliego i niepłodność u myszy 40-60 tygodniowych, jakkolwiek u młodszych osobników w wieku reprodukcyjnym struktura jądra oraz produkcja komórek germinalnych jest prawidłowa [111]. Z drugiej strony, iniekcja dojądrowa syntetycznego peptydu zaburzającego homotypowe interakcje między cząsteczkami okludyny zlokalizowanymi w błonach sąsiadujących komórek Sertoliego prowadzi do uszkodzenia BTB i uwalniania komórek germinalnych z nabłonka plemnikotwórczego szczura, co sugeruje, że okludyna może w istotny sposób wpływać na funkcję bariery [16].

Okludyna, kładyny-3, -5 i -11 wykazują zróżnicowaną ekspresję w poszczególnych stadiach cyklu nabłonka plemnikotwórczego, co wskazuje na odmienną funkcję tych białek podczas przemieszczania się spermatocytów do przedziału adluminalnego nabłonka plemnikotwórczego [15]. W kanalikach plemnikotwórczych myszy stwierdzono odwrotną korelację między poziomem okludyny i kładyny-11, co może świadczyć o komplementarnym działaniu tych białek w zapewnieniu funkcji BTB [15]. Z kolei przejściowa ekspresja kładyny-3 i kładyny-5 w stadiach bez-

pośrednio poprzedzających pasaż spermatocytów może być odzwierciedleniem ich interakcji w utrzymaniu integralności BTB podczas dynamicznej przebudowy połączeń międzykomórkowych [15, 85].

Ważną grupą komponent połączeń ścisłych są cytoplazmatyczne białka strefy zamykającej zwane zonula occludens: ZO-1, ZO-2 i ZO-3, które oddziałują z białkami transbłonowymi i aktyną, zapewniając bezpośrednie połączenie z cytoszkieletem aktynowym. Białka ZO-1 dodatkowo oddziałują z licznymi białkami regulatorowymi, co wskazuje na ich udział w regulacji szlaków sygnalizacyjnych [25, 38]. W gonadzie męskiej najlepiej poznana jest funkcja białka ZO-1, którego lokalizację w rejonie BTB wykazano w jądrach zwierząt laboratoryjnych [15, 91, 94], psa [42], knura [46] oraz człowieka [26]. Oddziaływanie z filamentami aktynowymi poprzez cząsteczkę ZO-1 jest niezbędne dla lokalizacji okludyny w miejscu połączeń ścisłych [31]. Obniżoną ekspresję oraz nieprawidłową lokalizację ZO-1 stwierdzono u mężczyzn w jądrach z przedinwazyjną formą raka [27]. Ponadto, test z użyciem azotanu lantanu, mający na celu ocenę przepuszczalności połączeń ścisłych w miejscu BTB wskazał, iż te zmiany nowotworowe prowadzą do utraty integralności BTB, co podkreśla rolę ZO-1 w utrzymaniu funkcji bariery. Spadek ekspresji i nieprawidłową lokalizację ZO-1 wykazano również w gonadach samców szczurów w wyniku działania różnorodnych substancji toksycznych dla rozrodu, jak chlorek kadmu [143] i dietylhksyloftalan [121] oraz w jądrach knurów traktowanych flutamidem w okresie prenatalnym i neonatalnym [46], a zmiany te prowadziły do zaburzonego procesu różnicowania komórek germinalnych i uszkodzenia kanalików plemnikotwórczych. W miejscu BTB zlokalizowano również białko ZO-2 [9]. U myszy z niemal całkowitą utratą ekspresji ZO-2 w jądrach, wykazano zmiany lokalizacji innych komponent bariery, jak kładyna-11 i Cx43 oraz zwiększoną przepuszczalność struktury dla lantanu, co wskazuje na znaczącą rolę tego białka w utrzymaniu integralności połączeń ścisłych [147].

Przedstawiciele rodziny cząsteczek adhezyjnych JAM są białkami o pojedynczej domenie transbłonowej należącymi do nadrodziny immunoglobulin [4]. W gonadzie wykazano ekspresję białek JAM-A, -B i -C, spośród których JAM-A i JAM-B występują w komórkach Sertoliego w miejscu BTB oraz w okrągłych i wydłużonych spermatydach [35, 117]. U myszy z delecją genu *Jam-A* stwierdzono zaburzoną ruchliwość plemników prowadzącą do obniżonej płodności, natomiast u osobników z delecją genu *Jam-B* nie obserwowano zmian w morfologii jąder i plemników ani płodności, co sugeruje niewielką rolę tych białek w utrzymaniu integralności BTB [112, 117].

Dalszym składnikiem połączeń ścisłych i zakotwiczących jest receptor CAR [84,134]. Receptor ten został początkowo scharakteryzowany jako białko powierzchniowe uczestniczące w wejściu do komórki wirusa Coxsackie B i adenowirusa [18]. Dalsze badania wykazały, że białko to kolokalizuje z okludyną i koprecypituje z ZO-1, co wskazuje, że jest ono składnikiem kompleksu połączeń ścisłych i jego regulatorem [17, 99]. Dodatkowo, białku CAR przypisuje się rolę w adhezji komórkowej [97]. W jądrze białko to ulega ekspresji w komórkach Sertoliego i komórkach germinalnych. Stosując barwienie immunofluorescencyjne wykazano kolokalizację CAR z ZO-1 i N-kadheryną w rejonie BTB [134].

4. SPECJALIZACJE POWIERZCHNIOWE

Podczas przemieszczania się komórek germinalnych z części peryferycznej w kierunku światła kanalików, komórki Sertoliego tworzą z nimi dynamiczne kompozycje określane jako stadia cyklu nabłonka plemnikotwórczego. Proces spermiogenezy obejmujący różnorodne zmiany morfologiczne spermatyd, takie jak uzyskanie polarność, kondensacja chromatyny i formowanie jądra komórkowego oraz powstanie akrosomu, witki i ciał resztkowych związany jest również ze zmianami pozycji spermatyd w nabłonku plemnikotwórczym [62]. Każda komórka Sertoliego asocjuje z około 30-50 komórkami germinalnymi, których liczba jest zależna od gatunku [137]. Stabilna adhezja między komórkami germinalnymi i komórkami Sertoliego jest zapewniona dzięki połączeniom desmosomopodobnym oraz apikalnym specjalizacjom powierzchniowym, a bliski kontakt obu typów komórek jest warunkiem prawidłowego przebiegu spermatogenezy [58].

Struktury określane jako specjalizacje powierzchniowe są specyficznym dla jądra typem połączeń zakotwiczących. Bazalne specjalizacje powierzchniowe obecne są między sąsiadującymi komórkami Sertoliego w miejscu BTB. Natomiast analogiczne połączenia, zlokalizowane w rejonie przysrodkowym kanalika plemnikotwórczego w miejscu kontaktu komórek Sertoliego z komórkami germinalnymi określane są jako apikalne specjalizacje powierzchniowe [86,130,150].

Bazalne specjalizacje powierzchniowe

Wiadomo, że bazalne specjalizacje powierzchniowe przyczyniają się do utrzymania integralności BTB [105], jakkolwiek mechanizm tego zjawiska nie został dotychczas poznany. Do chwili obecnej zidentyfikowano dwa główne kompleksy białkowe bazalnych specjalizacji powierzchniowych: kompleks kadheryna/katenina oraz nektyna/afadyna (ryc. 2).

Wielobiałkowe kompleksy kadheryna-katenina są jednostkami adhezyjnymi, pełniącymi również dodatkowe funkcje, jak regulacja stopnia polimeryzacji cytoszkieletu i polarności komórkowej czy kontrola podziałów komórkowych i supresja nowotworu. Kadheryny są dużą rodziną transbłonowych białek pośredniczących w adhezji zależnej od jonów wapnia. Z cytoplazmatycznym końcem kadheryn, w tym N-kadheryny i E-kadheryny, wiążą się α -katenina lub γ -katenina (zwana również plakoglobina) oraz katenina p120. Kompleks ten jest zakotwiczony w cytoszkielet aktynowym poprzez białko wiążące aktynę, α -kateninę (ryc. 2 i 3) [95]. Najnowsze badania *in vitro* wskazują jednak, że α -katenina nie może równocześnie wiązać się do F-aktyny i kompleksu kadheryna/ α -katenina, co sugeruje, że w interakcjach z cytoszkieletem aktynowym mogą pośredniczyć inne białka cytoplazmatyczne [22, 148].

W gonadzie, N-kadheryna oraz E-kadheryna ulega ekspresji zarówno w komórkach Sertoliego jak i germinalnych. Ekspresja E-kadheryny w komórkach germinalnych jest znacząco większa niż N-kadheryny, natomiast ekspresja N-kadheryny

przeważa wyraźnie w miejscach kontaktu sąsiadujących komórek Sertoliego [59, 65, 146]. O znaczeniu połączeń zakotwiczących dla prawidłowej spermatogenezy świadczy obniżona ekspresja β -kateniny w miejscach kontaktu komórek w kanalikach plemnikotwórczych z zatrzymanym procesem spermatogenezy i obecnością jedynie komórek Sertoliego [63]. Obniżoną ekspresję N-kadheryny i β -kateniny oraz nieprawidłową lokalizację tych białek stwierdzono również w gonadach dorosłych knurów poddanych ekspozycji na anty-androgen, flutamid. Zmiany te korelowały z zaburzonym różnicowaniem komórek germinalnych oraz atrofią kanalików plemnikotwórczych [46].

Apikalne specjalizacje powierzchniowe

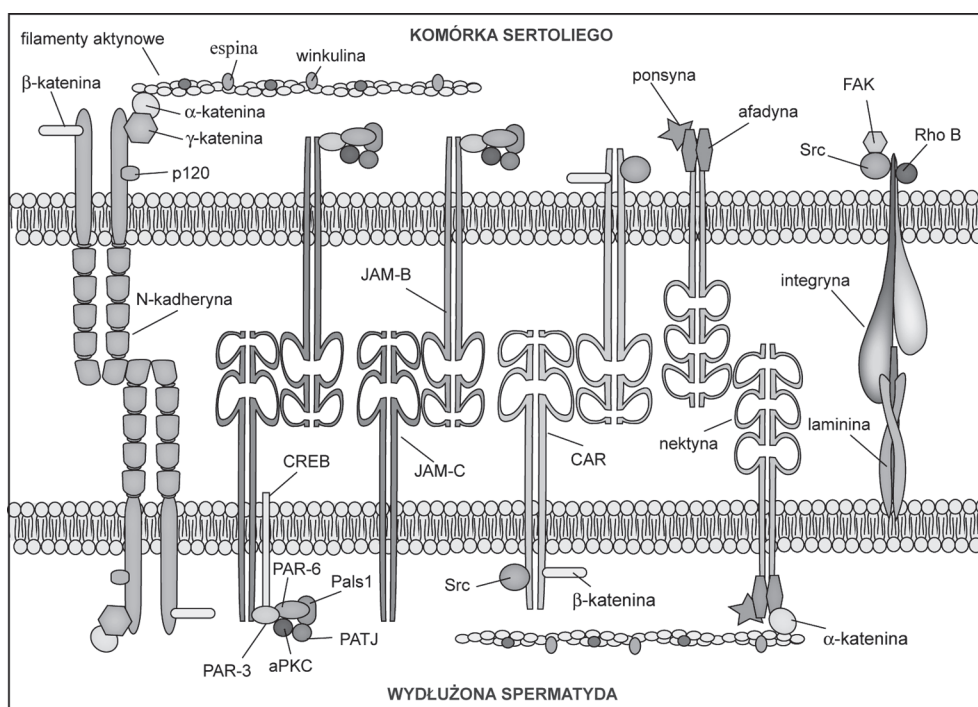
Apikalne specjalizacje powierzchniowe pojawiają się w miejscach kontaktu komórek Sertoliego i spermatyd, w momencie gdy spermatydy zaczynają się wydłużać (u szczura stadium ósmym spermatyd) i zanikają tuż przed spermacją [105], ulegając internalizacji przez inny typ połączeń, określane jako kompleks cewkowo-buławkowaty [154]. Apikalne specjalizacje powierzchniowe wykazują unikalną hybrydową naturę, dzięki której mogą one pełnić wyspecjalizowane funkcje przypisywane różnym typom połączeń w innych tkankach [144].

Przypuszcza się, że te struktury są odpowiedzialne za nadanie odpowiedniego kształtu główkom wydłużających się spermatyd, utrzymanie prawidłowej orientacji i pozycji spermatyd w nabłonku plemnikotwórczym, przemieszczanie się spermatyd w kryptach komórek Sertoliego oraz regulację spermacji. Jednak główną funkcją tych połączeń jest zapewnienie stabilnej adhezji spermatyd do komórek Sertoliego [86]. Dzięki pomiarom siły niezbędnej do oddzielenia różnych typów komórek germinalnych (spermatocytów i spermatyd) od komórek Sertoliego wykazano, że adhezja przy udziale apikalnych specjalizacji powierzchniowych jest silniejsza niż przy udziale połączeń desmosomopodobnych [141].

Apikalne specjalizacje powierzchniowe wykorzystują cytoszkielet aktynowy jako miejsce zakotwiczenia w komórce. Ultrastrukturalnie, warstwa filamentów aktynowych zlokalizowana jest pomiędzy błoną komórek Sertoliego, a cysternami siateczki śródplazmatycznej, natomiast nie została stwierdzona w spermatydach. Dodatkowo, filamenty aktynowe apikalnych specjalizacji powierzchniowych ułożone są unipolarnie i tworzą układ heksagonalny, co odróżnia je od filamentów obecnych w miejscu połączeń międzykomórkowych w innych tkankach [86, 129]. Ponadto, apikalne specjalizacje powierzchniowe charakteryzują się unikalną kompozycją, obejmującą białka i kompleksy białkowe, które w innych tkankach tworzą połączenia ścisłe, połączenia przylegania czy kontakty zogniskowane zwane również płytkami przylegania [58] (ryc. 3).

Kompleksy kadheryna-katenina, poza lokalizacją w rejonie BTB, występują również w apikalnej części nabłonka plemnikotwórczego. Ze względu na niejednoznaczne wyniki badań obecność N-kadheryny w tym rejonie była kontrowersyjna, ale obecnie wiadomo już, że białko to jest komponentą apikalnych specjalizacji powierzchniowych [51, 66, 140] (ryc. 3).

W adhezji wydłużonych spermatyd do komórek Sertoliego pośredniczy również kompleks integryna-laminina. Integryny są białkami kontaktów zogniskowanych oraz



RYCINA 3. Molekularna architektura apikalnych specjalizacji powierzchniowych z uwzględnieniem głównych kompleksów białkowych. Według Kopera i wsp. [58] oraz Cheng i Mruk [13], zmienione. p120 – katenina p120; FAK – kinaza FAK; Src – kinaza Src; Rho B – białko Rho; JAM-B, -C – cząsteczki adhezyjne JAM-B, -C; CREB – czynnik transkrypcyjny CREB; CAR – receptor CAR; aPKC/Par3/Par6 – kompleks Par; PATJ i Pals1 – białka polarności komórkowej.

FIGURE 3. The molecular architecture of the main multiprotein complexes that constitute the apical ectoplasmic specializations. According to Kopera et al. [58] and Cheng and Mruk [13], modified.

p120 – p120 catenin; FAK – focal adhesion kinase; Src – protein tyrosine kinase of the transforming gene of Rous sarcoma virus; Rho B – *ras homologous*; JAM-B, -C – *junctional adhesion molecules-B, -C*; CREB – *cAMP response element-binding*; CAR – coxsackievirus and adenovirus receptor; aPKC/Par3/Par6 – Par (partitioning defective) complex; PATJ and Pals1 – polarity proteins.

hemidesmosomów, połączeń odpowiedzialnych za zakotwiczenie komórki do macierzy zewnątrzkomórkowej [33, 76], podczas gdy lamininy są składnikami błony podstawnej [82, 83]. W jądrze nie występują kontakty zogniskowane, a jedyną strukturą odpowiedzialną za przytwierdzenie komórek Sertoliego do błony własnej kanałika plemnikotwórczego są hemidesmosomy asocjujące z filamentami pośrednimi [145]. Badania Yan i wsp. (2008) wykazały obecność $\beta 1$ integryny w desmosomach gonady męskiej, jednak kompleks integryna-laminina został zidentyfikowany w miejscu apikalnych specjalizacji powierzchniowych. Interesującym jest fakt, że ekspresję integryny $\alpha 6 \alpha 1$ oraz lamininy $\alpha 3 \alpha 3 \alpha 3$ stwierdzono kolejno w komórkach Sertoliego i wydłużonych spermatydach [119, 149] (ryc. 3). Najnowsze badania wykazały, że zrekombinowane fragmenty białkowe lamininy $\beta 3$ i $\beta 3$ wywołują redukcję poziomu okludyny w BTB i integryny $\alpha 1$ w hemidesmosomach, co może świadczyć o precyzyjnej koordynacji przebudowy połączeń międzykomórkowych podczas

spermacji i pasażu spermatocytów przez BTB [152]. Co istotne, obserwacje te wskazują na istnienie fizjologicznego powiązania między hemidesmosomami oraz połączeniami bariery.

W miejscu specjalizacji powierzchniowych (zarówno apikalnych jak i bazalnych) zlokalizowano inne białko kontaktów zogniskowanych, winkulinę, która odgrywa istotną rolę podczas przemieszczania się komórek. W wyniku badań postawiono hipotezę, iż winkulina uczestniczy w przebudowie połączeń międzykomórkowych poprzedzającej spermację [96, 120].

Pomimo, iż połączenia ściśle występują w gonadzie męskiej jedynie w miejscu BTB, niektóre białka tych połączeń zostały zidentyfikowane również w innych rejonach nabłonka plemnikotwórczego (ryc. 3). Badania Glik i wsp. [35] wykazały w miejscu apikalnych specjalizacji powierzchniowych obecność JAM-B oraz JAM-C, odpowiednio w komórkach Sertoliego i spermatydach. Dzięki wykorzystaniu transgenicznym myszy z knockoutem globalnym, jak również z knockoutem jedynie w komórkach meiotycznych genu kodującego JAM-C dowiedziono, iż białko to jest niezbędne dla różnicowania okrągłych spermatyd w plemniki [35, 92].

Należy zaznaczyć, że apikalne i bazalne specjalizacje powierzchniowe wykazują nie tylko szereg podobieństw ale również istotne różnice dotyczące ich funkcji oraz regulacji. Według niektórych badaczy unikalna hybrydowa natura apikalnych specjalizacji powierzchniowych czyni ten typ połączeń idealnym celem dla rozwoju badań nad męską antykoncepcją w przyszłości, kiedy regulacja ich funkcji zostanie lepiej poznana i w pełni zrozumiana [1, 67, 89].

5. KOMPLEKSY CEWKOWO-BUŁAWKOWATE

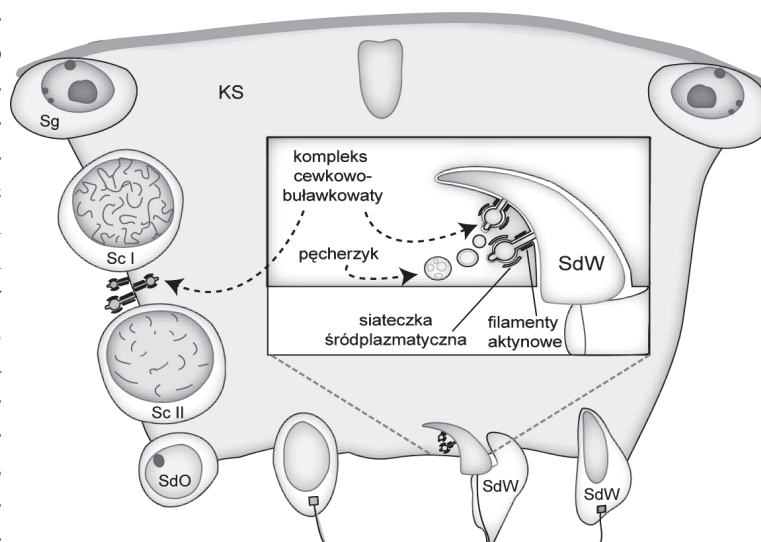
Obecność kompleksów cewkowo-buławkowatych w jądrze została po raz pierwszy wykazana w oparciu o analizę morfologiczną nabłonka plemnikotwórczego przeprowadzoną przez Russella i Clermonta w drugiej połowie lat 70. ubiegłego wieku [104]. Struktury te pojawiają się pod koniec procesu spermiogenezy w apikalnej części nabłonka plemnikotwórczego w miejscach kontaktu komórek Sertoliego i wydłużonych spermatyd w rejonach zajmowanych uprzednio przez apikalne specjalizacje powierzchniowe. Kompleksy cewkowo-buławkowate mają postać cylindrycznych wypustek błon komórkowych spermatyd zakończonych bulwiastym rozszerzeniem i zlokalizowanych w inwaginacjach sąsiadujących komórek Sertoliego (ryc. 4). W cytoplazmie komórek Sertoliego region cylindryczny otoczony jest siecią filamentów aktynowych, podczas gdy wokół regionu bulwiastego znajdują się elementy siateczki śródplazmatycznej. Ponadto, w pobliżu dystalnego końca wypustek obecne są skupiska pęcherzyków, które w mikroskopie elektronowym i dzięki obecności białek markerowych EEA1 (ang. *early endosome antigen1*), LAMP1 (ang. *lysosome associated membrane protein 1*) i SGP1 (ang. *sulphated glycoprotein 1/cathepsin*) zidentyfikowano jako endosomy oraz lizosomy [41,154]. Kompleksy cewkowo-buławkowate wykazują liczne podobieństwa do podosomów, struktur za-

angażowanych w adhezję i degradację macierzy zewnątrzkomórkowej. W oparciu o te obserwacje i ekspresję określonych białek zasugerowano, że formowanie kompleksów cewkowo-buławkowatych rozpoczyna się wytworzeniem dołka opłaszczonego klatryną. Natomiast dalsze wydłużanie cylindrycznych wypustek jest związane z powstaniem trójwymiarowej sieci rozgałęzień filamentów aktynowych, podobnie jak ma to miejsce w podosomach [153].

Kompleksy cewkowo-buławkowate zaangażowane są w spermację, jednak ich dokładna rola w tym procesie jest stosunkowo słabo poznana. Dotychczas sugeruje się, iż struktury te uczestniczą w zakotwiczeniu spermatyd w komórkach Sertoliego, a ich rozpad związany jest z uwolnieniem komórek germinalnych do światła kanalików plemnikotwórczych [104]. Inne badania wskazują na funkcję kompleksów cewkowo-buławkowatych w usuwaniu nadmiaru cytoplazmy i zawartości akrosomu spermatyd oraz w mechanicznej stabilizacji podczas wydłużania się głowy spermatydy [54, 107, 128]. Ponadto, uważa się, że kompleksy cewkowo-buławkowate uczestniczą w internalizacji apikalnych specjalizacji powierzchniowych podczas ich demontażu poprzedzającego spermację [109, 154]. Ostatnią hipotezę wspierają badania Guttman'a i wsp. [41], w których stwierdzono obecność białek specjalizacji powierzchniowych w kompleksach i pęcherzykach zlokalizowanych w pobliżu ich dystalnego końca. Ponadto, badacze ci wykazali w rejonach komórek Sertoliego zajmowanych przez kompleksy cewkowo-buławkowate kinazę białkową $C\alpha$, której rolą jest regulacja endocytozy cząsteczek adhezyjnych.

W nabłonku plemnikotwórczym kompleksy cewkowo-buławkowate występują również w miejscu BTB, w postaci wypustek cytoplazmatycznych umiejscowionych w inwaginacjach

sąsiadujących komórek Sertoliego [104] (ryc. 4). Obserwacje ultrastrukturalne pozwoliły stwierdzić obecność połączeń ścisłych i połączeń szczelinowych w tych kompleksach, co wskazuje na ich rolę w internalizacji struktur adhezyjnych podczas cyklicznej przebudowy BTB związanej z migracją spermatocytów [106].



RYCINA 4. Budowa i lokalizacja kompleksów cewkowo-buławkowatych. Według Guttman'a i wsp. [41], zmienione.
FIGURE 4. Structure and localization of tubulobulbar complexes. According to Guttman et al. [41], modified.

6. DESMOSOMY/POŁĄCZENIA DESMOSOMOPODOBNE

Desmosomy są połączeniami międzykomórkowymi, które pośredniczą w stabilnej adhezji między komórkami nabłonkowymi i odpowiadają za utrzymanie integralności tkanek. Pełnią one istotną rolę w narządach i tkankach narażonych na stres mechaniczny (serce, skóra), ale występują również w innych narządach, jak wątroba, nerka i jądro [49]. Połączenia te, poza funkcją adhezyjną, regulują różnorodne szlaki wewnątrzkomórkowe, dzięki czemu uczestniczą w kontroli proliferacji komórek i ich migracji, różnicowaniu tkanek oraz morfogenezie [32, 136]. Integralnymi białkami błonowymi tych połączeń są kadheryny desmosomalne: desmogleiny i desmokoliny. Te cząsteczki adhezyjne asocjują następnie z płytką cytoplazmatyczną zbudowaną z plakoglobiny (znanej również jako γ -katenina), plakofiliny i desmoplakiny, w której zakotwiczone są filamenty pośrednie cytoszkieletu [20].

Pomimo, iż obecność struktur desmosomopodobnych w gonadzie znana jest od ponad trzech dekad [103], dostępna wiedza o budowie i funkcji tych połączeń jest zaskakująco niewielka. Najnowsze badania potwierdziły ekspresję kilku genów desmosomalnych w jądrze oraz obecność funkcjonalnych połączeń desmosomopodobnych pomiędzy komórkami Sertoliego *in vitro* [72]. Struktury te, poza lokalizacją w rejonie BTB, występują także w miejscach kontaktu między komórkami Sertoliego i niektórymi stadiami komórek germinalnych, aż do spermatyd w stadium ósmym, w których zostają zastąpione przez apikalne specjalizacje powierzchniowe [103] (ryc. 1 i 3). Tak więc typ połączenia zakotwiczonego pomiędzy komórkami Sertoliego i germinalnymi zależy od stopnia zróżnicowania komórek germinalnych. Należy podkreślić, iż desmosomy w gonadzie określane są jako połączenia desmosomopodobne, ponieważ wykazują podobieństwa na poziomie ultrastrukturalnym z połączeniami szczelinowymi [108]. Ponadto wiadomo, że w gonadzie męskiej dochodzi do strukturalnych interakcji plakofiliny (białka desmosomalnego) z białkiem połączeń szczelinowych, koneksyną 43 (Cx43, ang. *connexin 43*), a następnie oddziaływania Cx43 z białkami budującymi BTB, jak N-kadheryna i ZO-1 [70].

Najnowsze badania z zastosowaniem specyficznych siRNA wykazały, iż równoczesny knock-down genów kodujących desmogleinę-2 i desmokolinę-2 prowadzi do obniżonej ekspresji i nieprawidłowej cytoplazmatycznej lokalizacji białka ZO-1 w hodowanych komórkach Sertoliego. Równocześnie obserwowano zmiany lokalizacji kinazy c-Src (ang. *protein tyrosine kinase of the transforming gene of Rous sarcoma virus*) oraz nasiloną endocytozę receptora CAR, co prowadziło do częściowego naruszenia funkcji BTB [72]. Ponadto, desmogleina-2 koimmunoprecypituje z kinazą c-Src, która oddziałuje również z innymi białkami bariery, jak CAR, okludyna, N-kadheryna, ZO-1 oraz Cx43 [11]. Na podstawie tych obserwacji stwierdzono, iż połączenia desmosomopodobne dzięki interakcjom z c-Src zapewniają prawidłową fosforylację białek bariery, a poza ich funkcją w zapewnieniu adhezji międzykomórkowej, stanowią również platformę uczestniczącą w przekazaniu sygnału w miejscu BTB (patrz przegląd: [11, 88]).

7. POŁĄCZENIA SZCZELINOWE

Połączenia szczelinowe (*ang. gap junctions*) są typem połączeń komunikacyjnych utworzonym przez wyspecjalizowane kanały pomiędzy przedziałami cytoplazmatycznymi sąsiadujących komórek. Kanały te wytworzone są przez dwa koneksyny, heksameryczne struktury powstałe w wyniku oligomeryzacji białek należących do rodziny koneksyn (Cx). Połączenia szczelinowe dostarczają szlaków komunikacyjnych między komórkami i umożliwiają koordynację aktywności komórek dzięki dwukierunkowej wymianie cząsteczek o masie cząsteczkowej mniejszej od 1,5 kDa, jak jony, aminokwasy, drobnocząsteczkowe metabolity czy przekaźniki sygnału [61]. W genomie człowieka zidentyfikowano 21, natomiast u myszy 20 genów kodujących różne typy koneksyn, które ulegają ekspresji w sposób zależny od komórki, tkanki i etapu rozwoju [90, 122]. Połączenia szczelinowe pełnią istotną rolę w licznych procesach, jak regulacja morfogenezy podczas rozwoju zarodkowego, różnicowanie, wzrost i proliferacja, regulacja metabolizmu komórkowego, utrzymanie homeostazy, regeneracja tkanek oraz karcinogeneza [69, 73, 81].

Połączenia te zapewniają również komunikację międzykomórkową w jądrze, niezbędną dla prawidłowego przebiegu spermatogenezy. W gonadzie męskiej wykazano ekspresję kilkunastu koneksyn (Cx26, Cx31, Cx31.1, Cx32, Cx33, Cx37, Cx40, Cx43, Cx45, Cx46 i Cx50), wśród których dominującą jest koneksyna 43 [100]. W nabłonku plemnikotwórczym Cx43 tworzy połączenia szczelinowe pomiędzy sąsiadującymi komórkami Sertoliego (w miejscu BTB) oraz pomiędzy komórkami Sertoliego i germinalnymi. Liczne badania wskazują, że ekspresja i lokalizacja tej koneksyny u wielu gatunków ssaków i człowieka ulega zmianom, które korelują z różnicowaniem komórek germinalnych i mają charakter zależny od stadium cyklu nabłonka plemnikotwórczego [3, 93, 124]. Niemniej jednak, istnieją pewne gatunkowo-specyficzne różnice we wzorze dystrybucji tego białka. Przykładowo, Cx43 zlokalizowano w przedziale adluminalnym nabłonka plemnikotwórczego, w miejscach kontaktu komórek Sertoliego z wydłużonymi spermatydami, u konia, psa i knura [47, 56, 110], natomiast u szczurów obecność koneksyny 43 w tej części nabłonka pozostaje kontrowersyjna [19, 70]. Wyniki badań Decrouy i wsp. [19] dotyczące oceny dyfuzji barwników pomiędzy sąsiadującymi komórkami nabłonka plemnikotwórczego w połączeniu z analizą ekspresji Cx43 jednoznacznie wykazały sieć komunikacji międzykomórkowej zbudowanej z koneksynowych połączeń szczelinowych. Interesującym jest fakt, iż natężenie dyfuzji barwnika zmieniało się w zależności od stadium cyklu nabłonka plemnikotwórczego. Stadio-zależna lokalizacja Cx43 i funkcja utworzonych przez nią połączeń szczelinowych wskazuje na uczestnictwo tego białka w koordynacji metabolizmu komórek Sertoliego oraz koordynacji metabolicznej pomiędzy komórkami Sertoliego i komórkami germinalnymi, która zapewnia synchronizację proliferacji i różnicowania komórek germinalnych [98].

Koneksyna 43 pełni kluczową rolę w regulacji rozwoju i funkcji gonady męskiej o czym jednoznacznie świadczą wyniki badań na transgenicznym myszom z *knockoutem* genu *Gjal* (*ang. gap junction alpha 1*), inaczej genu *Cx43*. U myszy

tych wykazano między innymi mniejszą masę jąder, zatrzymanie spermatogenezy na etapie spermatogoniów, zredukowaną liczbę komórek germinalnych, a nawet obecność w kanalikule jedynie komórek Sertoliego [8, 102]. Koneksyna 43 uczestniczy w kontroli proliferacji i różnicowania komórek Sertoliego, o czym świadczy znacząco wyższa ekspresja markera stanu ich dojrzałości, receptora α hormonów tarczycy (THRA, ang. *thyroid hormone receptor α*) w jądrach mutantów [8, 123]. Ponadto, badania z zastosowaniem specyficznych inhibitorów połączeń szczelinowych wykazały zwiększoną inkorporację bromodeoksyurydyny (BrdU) w komórkach Sertoliego równoległe ze wzrostem ich liczby, co dostarcza dowodów na uczestnictwo Cx43 w negatywnej regulacji proliferacji komórek Sertoliego i tym samym kontroli wydajności spermatogenezy [34]. Połączenia szczelinowe w nabłonku plemnikotwórczym mogą być również zaangażowane w kontrolę przeżywania/śmierci komórek szlaku spermatogenezy, a ich rola wydaje się być odmienna na różnych etapach życia postnatalnego. Zablokowanie koneksyn w wyniku iniekcji specyficznych peptydów pan-koneksynowych prowadzi do nasilonej apoptozy i utraty komórek germinalnych w nabłonku plemnikotwórczym dorosłych szczurów [64]. Ponadto, w zarodkach myszy z knockoutem genu *Cx43* wykazano mniejszą liczbę pierwotnych komórek płciowych zasiedlających grzebienie płciowe, co związane było ze wzrostem ich apoptozy w wyniku nieprawidłowej aktywacji białka p53 [30]. Z drugiej strony, badania *in vitro* na materiale pozyskanym z jąder neonatalnych szczurów wykazały, iż zastosowanie blokerów połączeń szczelinowych (α -GA) oraz peptydów blokujących Cx43 i peptydów pan-koneksynowych prowadzi do redukcji liczby komórek germinalnych wykazujących ekspresję aktywowanej kaspazy-3, enzymu wykonawczego apoptozy [34].

Najnowsze badania wskazują na uczestnictwo Cx43 w lokalnej regulacji białek tworzących kompleksy połączeń międzykomórkowych w gonadzie męskiej (patrz przegląd: [138]). U szczurów z knock-outem *Cx43* stwierdzono zaburzoną ekspresję białek połączeń ścisłych i przylegania [10]. Podobne rezultaty uzyskano w hodowanych komórkach Sertoliego z knock-downem genu *Cx43* lub traktowanych blokerami połączeń szczelinowych [10]. Obserwacje te wskazują, iż Cx43 jest zaangażowana w kontrolę dynamiki BTB w jądrach. Ponadto, w komórkach Sertoliego zidentyfikowano funkcjonalny kompleks Cx43 i plakofiliny-2, białka połączeń desmosomopodobnych, który reguluje rozmieszczenie białek połączeń ścisłych budujących BTB i, w konsekwencji, odpowiada za utrzymanie integralności bariery [70]. Wykazano również, iż knock-down genu *Cx43* opóźnia ponowny montaż BTB zaburzonej uprzednio w wyniku zastosowania chelatora jonów wapniowych lub bisfenolu A [71]. Wyniki te wskazują istotną rolę Cx43 w montażu BTB podczas jej cyklicznej przebudowy w warunkach fizjologicznych.

W gonadzie męskiej koneksyna 43 jest również zlokalizowana w tkance interstycjalnej pomiędzy sąsiadującymi komórkami Leydiga [7,56]. Do chwili obecnej Cx43 jest jedynym typem koneksyn zidentyfikowanym w komórkach Leydiga [101,127]. U różnych gatunków ssaków ekspresja tego białka w tkance interstycjalnej wzrasta wraz z wiekiem osiągając maksymalny poziom u osobników dorosłych [23, 45, 56, 57, 101], co może wskazywać na udział Cx43 w koordynacji androgennej aktywności komór-

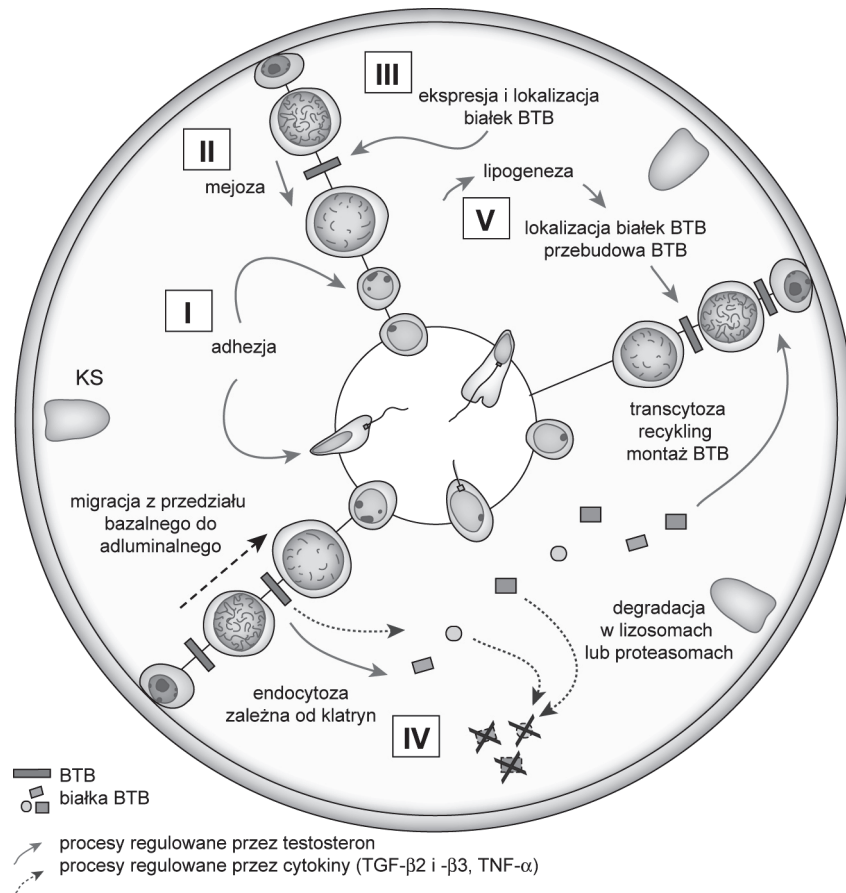
rek Leydiga. Hipotezę tę wspierają badania Goldenberg i wsp. [37] prowadzone na hodowanych komórkach Leydiga, w których udowodniono, iż wzrost sekrecji testosteronu w odpowiedzi na LH jest związany z obniżoną komunikacją międzykomórkową poprzez połączenia szczelinowe. Dotychczas, jedynie badania Kahiri i wsp. [52] sugerują, że utworzone przez Cx43 połączenia szczelinowe nie są kluczowymi dla produkcji androgenów, gdyż w gonadzie myszy z knock-outem genu *Cx43* nie stwierdzono steroidogennej dysfunkcji komórek Leydiga.

Nieprawidłowa ekspresja i/lub lokalizacja Cx43 związana jest z licznymi zaburzeniami spermatogenezy, co wskazuje na istotną funkcję tej koneksyny dla prawidłowego różnicowania komórek germinalnych. Osłabienie lub brak immunoekspresji Cx43 z równoczesną hypospermatogenezą lub syndromem samych komórek Sertoliego obserwowano w kanalikach plemnikotwórczych niepłodnych mężczyzn, myszy z zaburzoną spermatogenezą i koni z wnetrostwem [2,47,60,77,124]. Ponadto, zaburzona komunikacja poprzez połączenia szczelinowe objawiająca się obniżoną ekspresją Cx43 i zmianą dystrybucji białka z równoczesną dysfunkcją spermatogenezy została opisana w jądrach dorosłych szczurów oraz knurów traktowanych neonatalnie odpowiednio bisfenolem A i flutamidem [56,113]. Interesującym jest fakt, iż nieprawidłową lokalizację Cx43 stwierdzono również w nowotworach gonady męskiej [110, 114].

8. UDZIAŁ ANDROGENÓW W REGULACJI FUNKCJONOWANIA POŁĄCZEŃ MIĘDZYKOMÓRKOWYCH GONADY

U wszystkich gatunków ssaków różnicowanie oraz funkcjonalna aktywność jąder pozostaje pod kontrolą endokrynną obejmującą oś podwzgórzowo-przysadkowo-gonadalną. Uwalniana z gonadotropów przedniego płata przysadki lutropina (LH, *ang. luteinizing hormone*) stymuluje komórki Leydiga do produkcji i sekrecji głównego męskiego hormonu płciowego, testosteronu. Hormon ten jest niezbędnym dla różnicowania i rozwoju męskich narządów rozrodczych podczas embriogenezy i dojrzewania płciowego oraz regulacji i utrzymania spermatogenezy [21]. Sygnalizacja uruchamiana przez androgeny w komórkach Sertoliego jest również istotna dla transformacji spermatyd okrągłych w wydłużone i uwalniania komórek germinalnych do światła kanalików plemnikotwórczych [48]. W świetle najnowszych doniesień wiadomo, że testosteron odpowiada za adhezję spermatyd do komórek Sertoliego (ryc. 5 I) oraz utrzymanie integralności BTB, co wskazuje na jego istotną rolę w kontroli funkcjonowania połączeń międzykomórkowych w gonadzie [5,80,135]. Model działania testosteronu na białka połączeń międzykomórkowych w gonadzie męskiej przedstawiono na rycinach (ryc. 5 i 6).

Na kluczową rolę androgenów działających przez receptor własny (AR, receptor androgenowy, *ang. Androgen Receptor*) w regulacji czynności połączeń mię-



RYCINA 5. Wpływ testosteronu na dynamikę połączeń międzykomórkowych w gonadzie męskiej (szczegółowy opis w tekście). KS – komórka Sertoliego.

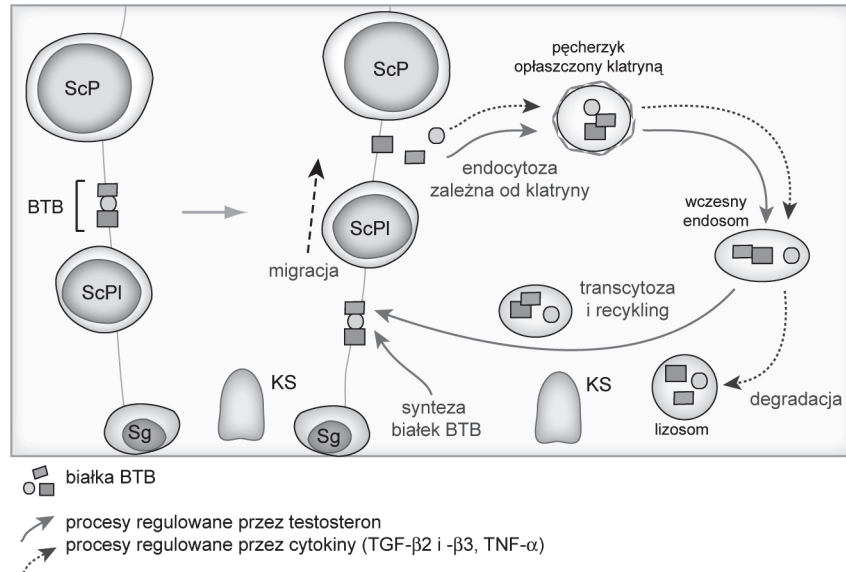
FIGURE 5. Effect of testosterone on testicular cell junction dynamics in the testis (see text for details). KS – Sertoli cell.

dzykomórkowych, szczególnie w miejscu BTB, jednoznacznie wskazują badania na transgenicznym myszach. U osobników $Ar^{invlox(ex1-neo)^Y};Tg(Amh-Cre)$ z usuniętym AR w komórkach Sertoliego stwierdzono dyfuzję biotyny do przedziału adluminalnego kanalików plemnikotwórczych, co świadczy o zwiększonej przepuszczalności BTB [80]. Obserwacje te wspierają badania na innym modelu mysim z knock-outem genu *AR* w komórkach Sertoliego (SCARCO, ang. *Sertoli cell-specific androgen receptor knockout*), które wykazały opóźnioną formację i zaburzoną funkcję BTB w jądrach mutantów. Zmiany te były związane z nieprawidłową ekspresją lub lokalizacją białek bariery, takich jak kładyna-3, kładyna-11, N-kadheryna, JAM-C, ZO-1 i Cx43, zaburzoną ekspresją licznych białek uczestniczących w adhezji komórkowej i dynamice cytoszkieletu oraz zablokowanym procesem mejozy w komórkach germinalnych [139]. Obserwacje te wskazują, iż brak funkcjonalnego AR w komórkach Sertoliego wpływa na proces formowania BTB uniemożliwiając prawidłową inicjację i postęp spermatogenezy oraz podkreślają istotną rolę androgenów

działających przez receptor własny w przebiegu podziału mejotycznego (ryc 5 II). Najnowsze badania grupy Bilińskiej [46, 56] wykazały, iż zablokowanie flutamidem działania androgenów na poziomie AR podczas istotnych okresów rozwoju gonady knura (okresu płodowego i neonatalnego) jest przyczyną nieprawidłowej ekspresji i lokalizacji białek połączeń ścisłych, przylegania i szczelinowych, co z kolei wydaje się być jednym z czynników prowadzących do zaburzenia funkcji jąder u dorosłych osobników.

Androgeny przyczyniają się do utrzymania funkcji barierowej jądra, uczestnicząc bezpośrednio w regulacji ekspresji białek budujących połączenia ściśle gonady (ryc. 5 III). Przykładowo, w hodowanych komórkach Sertoliego traktowanych uprzednio testosteronem stwierdzono zwiększoną ilość transkryptu kładyny-3 i -11 [53, 80]. Interesująco przedstawiają się również badania *in vivo* wskazujące na odmienne mechanizmy regulujące syntezę kładyny-11 przed dojrzewaniem płciowym i w życiu dorosłym [29]. Autorzy wykazali, że flutamid, niezależnie od dawki, wywołuje spadek poziomu mRNA i białka kładyny-11 u szczurów niedojrzałych płciowo, podczas gdy u osobników dorosłych zmiany te notowano jedynie przy zastosowaniu niskich dawek flutamidu. Zastosowanie natomiast wysokiej dawki flutamidu indukuje znaczne nasilenie apoptozy komórek germinalnych przy braku zmian ekspresji tego białka. W oparciu o te obserwacje oraz dodatkowe eksperymenty autorzy zasugerowali, iż ekspresja kładyny-11 może być stymulowana przez testosteron i hamowana przez postmeiotyczne komórki germinalne. Regulacja przez androgeny ekspresji innego białka połączeń ścisłych, okładyny, pozostaje kontrowersyjna. Zablokowanie jądrowych androgenów przez implanty androgenowe/estrogenowe wywołuje przejściowe zwiększenie ekspresji okładyny [146], natomiast ekspozycja na flutamid prowadzi do obniżonej ekspresji tego białka [43] w gonadach dojrzałych płciowo szczurów. Badania prowadzone u szczurów niedojrzałych płciowo traktowanych dietylheksyloftalanem [139] wykazały jednak brak zmian w ekspresji okładyny na poziomie transkryptu i białka [121]. Brak zmian notowano również u dorosłych knurów eksponowanych na flutamid w okresie prenatalnym lub neonatalnym [46]. Badania *in vitro* wykazały, iż testosteron, pomimo braku wpływu na ekspresję okładyny, promuje lokalizację okładyny w miejscach kontaktu komórek Sertoliego [53]. Ponadto stwierdzono, że poza kontrolą ekspresji białek połączeń ścisłych hormon ten uczestniczy również w regulacji ekspresji białek specjalizacji powierzchniowych [65].

Dynamiczna przebudowa połączeń międzykomórkowych umożliwia przemieszczanie się komórek germinalnych w nabłonku plemnikotwórczym przy równoczesnym utrzymaniu integralności nabłonka i bariery immunologicznej. Najnowsze badania wskazują, iż w kontroli wędrowki, tzw. obrotu (ang. *turnover*) białek połączeń ścisłych i połączeń przylegania, a więc ich endocytozie oraz powrocie na powierzchnię komórki uczestniczy testosteron wraz z cytokinami [125, 152]. W hodowanych komórkach Sertoliego wykazano, iż pod wpływem działania testosteronu oraz transformującego czynnika wzrostu $\beta 2$ (TGF- $\beta 2$ ang. *Transforming Growth Factor- $\beta 2$*) dochodzi do wzrostu kinetyki internalizacji białek połączeń ścisłych (okładyny i JAM-A) oraz specjalizacji powierzchniowych (N-kadheryny) przez szlak zależny od kła-



RYCINA 6. Hipotetyczny mechanizm przebudowy połączeń międzykomórkowych w miejscu BTB podczas pasażu spermatocytów preleptotennych z przedziału bazalnego do adluminalnego nabłonka plemnikotwórczego (szczegółowy opis w tekście). Sg – spermatogonium, ScPI – spermatocyt preleptotenny, ScP – spermatocyt pachytenowy.

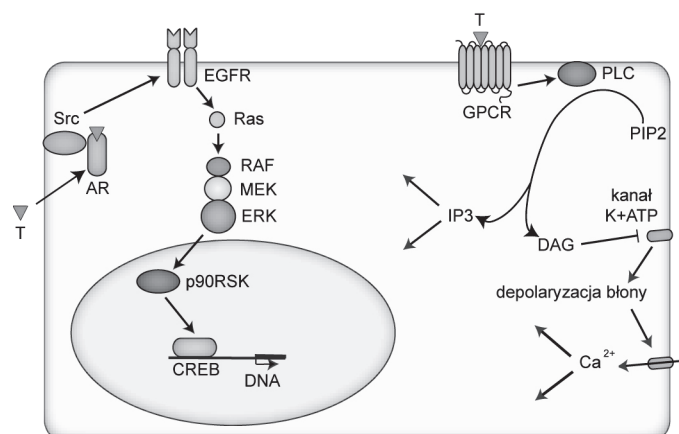
FIGURE 6. Hypothetical model of cell junction restructuring at the BTB during the transit of preleptotene spermatocyte from the basal to the adluminal compartment of the seminiferous epithelium (see text for details). Sg – spermatogonium, ScPI – preleptotene spermatocyte, ScP – pachytene spermatocyte.

tryny [151]. Ponadto stwierdzono, że testosteron jest odpowiedzialny za wzrost poziomu klatryny i jest zaangażowany w regulację ekspresji białek uczestniczących w transcytozie (kaweolina-1) i recyklingu (Rab11) oraz indukuje ich asocjację z internalizowaną okładyną i N-kadheryną [125]. Z kolei pod wpływem TGF-β3 dochodzi do wzrostu ekspresji enzymów uczestniczących w komórkowych szlakach degradacji białek [125]. Dokładny mechanizm funkcjonujący w miejscu BTB podczas pasażu spermatocytów preleptotennych z przedziału bazalnego do adluminalnego nabłonka plemnikotwórczego nie został jeszcze w pełni poznany. Powyższe obserwacje sugerują jednak, iż w trakcie wędrówki testosteron oraz cytokiny wzmagają endocytozę integralnych białek bariery krew-jądro. Testosteron pobudza następnie ich transcytozę oraz montaż „nowych” połączeń ścisłych i przylegania poniżej migrujących komórek, dzięki czemu możliwe jest utrzymanie funkcji barierowej komórek Sertoliego. Z kolei cytokiny, indukują degradację białek połączeń międzykomórkowych w lizosomach lub proteasomach, co prowadzi do przejściowego demontażu BTB powyżej migrujących spermatocytów. Mechanizm ten ułatwia następnie postępowe przemieszczanie komórek germinalnych do przedziału adluminalnego [13,125] (ryc. 5 IV, szczegółowo ryc. 6).

Badania Swinnen’a i wsp. [126] prowadzone na ludzkich komórkach nowotworu prostaty wykazały udział androgenów w regulacji ekspresji enzymów zaangażo-

wanych w lipogenezę. Testosteron jest również odpowiedzialny za regulację syntezy lipidów eterowych w gruczołach napletkowych myszy [68]. Najnowsze badania dodatkowo wskazują, iż związki te pełnią kluczową rolę w zapewnieniu funkcji BTB oraz dynamiki połączeń ścisłych (ryc. 5 V). W jądrach myszy z knockoutem genu kodującego acetylotransferazę dihydroksyacetonofosforanu (DAPAT, ang. *dihydroxyacetonephosphate acyltransferase*), enzymu uczestniczącego w biosyntezie lipidów eterowych, stwierdzono obniżoną ekspresję i nieprawidłową lokalizację klauudyny-3 oraz zaburzoną przebudowę BTB [55].

Powszechnie wiadomo, iż regulacja procesów fizjologicznych przez androgeny związana jest z ich klasycznym genomowym mechanizmem działania [36,116]. Najnowsze badania wskazują jednak, że odpowiedź komórek na androgeny może również odbywać się na drodze nie-klasycznej. Indukowane testosteronem szybkie efekty obejmujące zwiększenie wewnątrzkomórkowego poziomu wapnia stwierdzono między innymi w limfocytach T układu immunologicznego, komórkach mięśni szkieletowych, komórkach prostaty i komórkach Sertoliego [6, 24, 75]. Do chwili obecnej, w komórkach Sertoliego wykazano dodatkowo dwie nie-klasyczne drogi sygnalizacyjne: poprzez receptor androgenowy i receptor związany z białkiem G (ryc. 7). W wyniku oddziaływania hormonu z AR dochodzi do rekrutacji i aktywacji kinazy Src, co prowadzi do aktywacji receptora naskórkowego czynnika wzrostu (EGF,



RYCINA 7. Nie-klasyczny mechanizm działania androgenów w komórkach Sertoliego. AR – receptor androgenowy, T – testosteron, Src – kinaza Src, EGFR – receptor naskórkowego czynnika wzrostu, Ras – białko Ras, RAF – kinaza RAF, MEK – kinaza MEK, ERK – kinaza ERK, p90RSK – kinaza p90RSK, CREB – czynnik transkrypcyjny CREB, GPCR – receptor związany z białkiem G, PLC – fosfolipaza C, PIP2 – fosfatydyloinozytolo-4,5-difosforan, IP3 – inozytolo-1,4,5-trifosforan, DAG – diacylglicerol, ATP – adenosynotrójfosforan. Według Walker'a [132], zmienione.

FIGURE 7. Non-classical testosterone signalling pathways in Sertoli cells. AR – androgen receptor, T – testosterone, Src – Src kinase (protein tyrosine kinase of the transforming gene of Rous sarcoma virus), EGFR – epidermal growth factor receptor, Ras – Ras protein, RAF – RAF kinase (proto-oncogene serine-threonine-protein kinase), MEK – MAPK/ERK kinase, ERK – ERK kinase (extracellular signal-regulated kinase), p90RSK – p90RSK kinase (ribosomal protein S6 kinase polypeptide 1), CREB – cAMP response element-binding, GPCR – G protein coupled receptor, PLC – phospholipase C, PIP2 – phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate, IP3 – inositol 1,4,5-trisphosphate, DAG – diacylglycerol, ATP – adenosine triphosphate. According to Walker [132], modified.

ang. *epidermal growth factor*), który wyzwała kaskadę kinaz aktywowanych mitogenami (MAPK, ang. *mitogen-activated protein kinases*). Dochodzi do sekwencyjnej aktywacji kinazy RAF (ang. *proto-oncogene serin-threonine-protein kinase*), MEK (ang. *MAPK/ERK kinase*) i ERK (ang. *extracellular-signal-regulated kinase*), a następnie kinazy p90RSK (ang. *ribosomal protein s6 kinase polypeptide 1*), która w konsekwencji prowadzi do fosforylacji czynnika transkrypcyjnego CREB (ang. *cAMP response element-binding*), w wyniku czego dochodzi do indukcji regulowanych przez CREB genów [28]. Natomiast aktywacja przez testosteron transbłonowych receptorów związanych z białkiem G prowadzi do aktywacji fosfolipazy C katalizującej rozpad fosfatydyloinozytolo-4,5-difosforanu do inozytolo-1,4,5-trifosforanu i diacyloglicerolu. W wyniku spadku koncentracji fosfatydyloinozytolo-4,5-difosforanu dochodzi do zamknięcia kanałów K^+ ATP, co skutkuje depolaryzacją komórki i szybkim napływem jonów wapnia do jej wnętrza przez kanały wapniowe typu L [74, 131]. Najnowsze badania wskazują, że nie-klasyczny mechanizm działania testosteronu poprzez kinazy Src i ERK, w stadiach poprzedzających uwalnianie spermatyd, kiedy ekspresja AR jest najwyższa, przyczynia się do regulacji adhezji niedojrzałych komórek germinalnych do komórek Sertoliego. Aktywność kinazy Src jest również konieczna do rozpadu połączeń międzykomórkowych podczas uwalniania dojrzałych spermatyd z nabłonka plemnikotwórczego [118]. Dodatkowo, uruchamiana przez testosteron kaskada sygnalizacyjna może być odpowiedzialna za przebudowę połączeń międzykomórkowych między komórkami Sertoliego i spermatydami podczas wydłużania spermatyd w procesie spermiogenezy. Natomiast sygnalizacja przez fosfolipazę C i Ca^{2+} uczestniczy prawdopodobnie w regulacji sekrecji produktów niezbędnych dla przeżycia komórek germinalnych, stabilizuje cytoszkielet podczas przebudowy połączeń przylegania pomiędzy komórkami Sertoliego i germinalnymi oraz umożliwia różnicowanie i migrację komórek germinalnych w nabłonku plemnikotwórczym (patrz przegląd: [132, 133]).

PODSUMOWANIE

Przedstawione wyniki badań jednoznacznie ilustrują rolę komunikacji i adhezji między komórkami nabłonka plemnikotwórczego w prawidłowym różnicowaniu komórek germinalnych i podkreślają istotę precyzyjnych i złożonych mechanizmów molekularnych leżących u podłoża regulacji funkcjonowania połączeń międzykomórkowych. Równocześnie z zebranych danych wynika, iż zaburzenia połączeń międzykomórkowych mogą stanowić jedną z przyczyn zmian strukturalnych i funkcjonalnych gonady męskiej. Dlatego poznanie powyżej omówionych mechanizmów wydaje się mieć poważne znaczenie nie tylko dla lepszego zrozumienia procesu spermatogenezy, lecz również dla rozwoju nowych metod terapeutycznych umożliwiających leczenie obniżonej płodności lub bezpłodności męskiej, której drastyczny wzrost obserwuje się w ostatnich latach.

Powyższy artykuł wykonano w ramach Subsydium Profesorskiego MISTRZ (B.B.) z Fundacji na rzecz Nauki Polskiej w oparciu o rozprawę doktorską Ilony Kopyry-Soboty.

LITERATURA

- [1] AITKEN RJ, BAKER MA, DONCEL GF, MATZUK MM, MAUCK CK, HARPER MJ. As the world grows: contraception in the 21st century. *J Clin Invest* 2008; **118**: 1330–1343.
- [2] BATIAS C, DEFAMIE N, LABLACK A, THEPOT D, FENICHEL P, SEGRETAİN D, POINTIS G. Modified expression of testicular gap-junction connexin 43 during normal spermatogenic cycle and in altered spermatogenesis. *Cell Tissue Res* 1999; **298**: 113–121.
- [3] BATIAS C, SIFFROI JP, FENICHEL P, POINTIS G, SEGRETAİN D. Connexin43 gene expression and regulation in the rodent seminiferous epithelium. *J Histochem Cytochem* 2000; **48**: 793–805.
- [4] BAZZONI G. The JAM family of junctional adhesion molecules. *Curr Opin Cell Biol* 2003; **15**: 525–530.
- [5] BEARDSLEY A, O'DONNELL L. Characterization of normal spermiation and spermiation failure induced by hormone suppression in adult rats. *Biol Reprod* 2003; **68**: 1299–1307.
- [6] BENTEN WP, LIEBERHERR M, SEKERIS CE, WUNDERLICH F. Testosterone induces Ca²⁺ influx via non-genomic surface receptors in activated T cells. *FEBS Lett* 1997; **407**: 211–214.
- [7] BRAVO-MORENO JF, DIAZ-SANCHEZ V, MONTROYA-FLORES JG, LAMOYIE, SAEZ JC, PEREZ-ARMENDARIZ EM. Expression of connexin43 in mouse Leydig, Sertoli, and germinal cells at different stages of postnatal development. *Anat Rec* 2001; **264**: 13–24.
- [8] BREHM R, ZEILER M, RUTTINGER C, HERDE K, KIBSCHULL M, WINTERHAGER E, WILLECKE K, GUILLOU F, LECUREUIL C, STEGER K, KONRAD L, BIERMANN K, FAILING K, BERGMANN M. A sertoli cell-specific knockout of connexin43 prevents initiation of spermatogenesis. *Am J Pathol* 2007; **171**: 19–31.
- [9] BYERS S, GRAHAM R, DAI HN, HOXTER B. Development of Sertoli cell junctional specializations and the distribution of the tight-junction-associated protein ZO-1 in the mouse testis. *Am J Anat* 1991; **191**: 35–47.
- [10] CARETTE D, WEIDER K, GILLERON J, GIESE S, DOMPIERRE J, BERGMANN M, BREHM R, DENIZOT JP, SEGRETAİN D, POINTIS G. Major involvement of connexin 43 in seminiferous epithelial junction dynamics and male fertility. *Dev Biol* 2010; **346**: 54–67.
- [11] CHENG CH, WONG EW, LIE PP, LI MW, MRUK DD, YAN HH, MOK KW, MANNU J, MATHUR PP, LUI WY, LEE WM, BONANOMI M, SILVESTRINI B. Regulation of blood–testis barrier dynamics by desmosome, gap junctions, hemidesmosome and polarity proteins. An unexpected turn of events. *Spermatogenesis* 2011; **1**: 105–115.
- [12] CHENG CY, MRUK DD. Cell junction dynamics in the testis: Sertoli–germ cell interactions and male contraceptive development. *Physiol Rev* 2002; **82**: 825–874.
- [13] CHENG CY, MRUK DD. An intracellular trafficking pathway in the seminiferous epithelium regulating spermatogenesis: a biochemical and molecular perspective. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 2009; **44**: 245–263.
- [14] CHIBA H, OSANAI M, MURATA M, KOJIMA T, SAWADA N. Transmembrane proteins of tight junctions. *Biochim Biophys Acta* 2008; **1778**: 588–600.
- [15] CHIHARA M, OTSUKA S, ICHII O, HASHIMOTO Y, KON Y. Molecular dynamics of the blood–testis barrier components during murine spermatogenesis. *Mol Reprod Dev* 2010; **77**: 630–639.
- [16] CHUNG NP, MRUK D, MO MY, LEE WM, CHENG CY. A 22-amino acid synthetic peptide corresponding to the second extracellular loop of rat occludin perturbs the blood-testis barrier and disrupts spermatogenesis reversibly in vivo. *Biol Reprod* 2001; **65**: 1340–1351.
- [17] COHEN CJ, SHIEH JT, PICKLES RJ, OKEGAWA T, HSIEH JT, BERGELSON JM. The coxsackievirus and adenovirus receptor is a transmembrane component of the tight junction. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; **98**: 15191–15196.
- [18] COYNE CB, BERGELSON JM. CAR: a virus receptor within the tight junction. *Adv Drug Deliv Rev* 2005; **57**: 869–882.

- [19] DECROUY X, GASC JM, POINTIS G, SEGRETAIN D. Functional characterization of Cx43 based gap junctions during spermatogenesis. *J Cell Physiol* 2004; **200**: 146–154.
- [20] DELVA E, TUCKER DK, KOWALCZYK AP. The desmosome. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2009; **1**: a002543.
- [21] DOHLE GR, SMIT M, WEBER RF. Androgens and male fertility. *World J Urol* 2003; **21**: 341–345.
- [22] DREES F, POKUTTA S, YAMADA S, NELSON WJ, WEIS WI. Alpha-catenin is a molecular switch that binds E-cadherin-beta-catenin and regulates actin-filament assembly. *Cell* 2005; **123**: 903–915.
- [23] DURLEJ M, KOPERA I, KNAPCZYK-STWORA K, HEJMEJ A, DUDA M, KOZIOROWSKI M, SŁOMCZYŃSKA M, BILIŃSKA B. Connexin 43 gene expression in male and female gonads of porcine offspring following *in utero* exposure to an antiandrogen flutamide. *Acta histochem* 2011; **113**: 6–12.
- [24] ESTRADA M, ESPINOSA A, MULLER M, JAIMOVICH E. Testosterone stimulates intracellular calcium release and mitogen-activated protein kinases via a G protein-coupled receptor in skeletal muscle cells. *Endocrinology* 2003; **144**: 3586–3597.
- [25] FANNING AS, ANDERSON JM. Zonula occludens-1 and -2 are cytosolic scaffolds that regulate the assembly of cellular junctions. *Ann N Y Acad Sci* 2009; **1165**: 113–120.
- [26] FINK C, WEIGEL R, FINK L, WILHELM J, KLIESCH S, ZEILER M, BERGMANN M, BREHM R. Claudin-11 is over-expressed and dislocated from the blood-testis barrier in Sertoli cells associated with testicular intraepithelial neoplasia in men. *Histochem Cell Biol* 2009; **131**: 755–764.
- [27] FINK C, WEIGEL R, HEMBES T, LAUKE-WETTWER H, KLIESCH S, BERGMANN M, BREHM RH. Altered expression of ZO-1 and ZO-2 in Sertoli cells and loss of blood-testis barrier integrity in testicular carcinoma in situ. *Neoplasia* 2006; **8**: 1019–1027.
- [28] FIX C, JORDAN C, CANO P, WALKER WH. Testosterone activates mitogen-activated protein kinase and the cAMP response element binding protein transcription factor in Sertoli cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; **101**: 10919–10924.
- [29] FLORIN A, MAIRE M, BOZEC A, HELLANI A, CHATER S, BARS R, CHUZEL F, BENAHMED M. Androgens and postmeiotic germ cells regulate claudin-11 expression in rat Sertoli cells. *Endocrinology* 2005; **146**: 1532–1540.
- [30] FRANCIS RJ, LO CW. Primordial germ cell deficiency in the connexin 43 knockout mouse arises from apoptosis associated with abnormal p53 activation. *Development* 2006; **133**: 3451–3460.
- [31] FURUSE M, ITOH M, HIRASE T, NAGAFUCHI A, YONEMURA S, TSUKITA S. Direct association of occludin with ZO-1 and its possible involvement in the localization of occludin at tight junctions. *J Cell Biol* 1994; **127**: 1617–1626.
- [32] GARROD D, CHIDGEY M. Desmosome structure, composition and function. *Biochim Biophys Acta* 2008; **1778**: 572–587.
- [33] GEIGER B, SPATZ JP, BERSHADSKY AD. Environmental sensing through focal adhesions. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2009; **10**: 21–33.
- [34] GILLERON J, CARETTE D, DURAND P, POINTIS G, SEGRETAIN D. Connexin 43 a potential regulator of cell proliferation and apoptosis within the seminiferous epithelium. *Int J Biochem Cell Biol* 2009; **41**: 1381–1390.
- [35] GLIKI G, EBNET K, AURRAND-LIONS M, IMHOF BA, ADAMS RH. Spermatid differentiation requires the assembly of a cell polarity complex downstream of junctional adhesion molecule-C. *Nature* 2004; **431**: 320–324.
- [36] GOBINET J, POUJOL N, SULTAN C. Molecular action of androgens. *Mol Cell Endocrinol* 2002; **198**: 15–24.
- [37] GOLDENBERG RC, FORTES FS, CRISTANCHO JM, MORALES MM, FRANCI CR, VARANDA WA, CAMPOS DE CARVALHO AC. Modulation of gap junction mediated intercellular communication in TM3 Leydig cells. *J Endocrinol* 2003; **177**: 327–335.
- [38] GONZALEZ-MARISCAL L, BETANZOS A, NAVA P, JARAMILLO BE. Tight junction proteins. *Prog Biophys Mol Biol* 2003; **81**: 1–44.
- [39] GOWA, SOUTHWOOD CM, LI JS, PARIALI M, RIORDAN GP, BRODIE SE, DANIAS J, BRONSTEIN JM, KACHAR B, LAZZARINI RA. CNS myelin and sertoli cell tight junction strands are absent in *Osp*/claudin-11 null mice. *Cell* 1999; **99**: 649–659.
- [40] GRISWOLD MD, MCLEAN DJ. The Sertoli cell. [w] NEILL JD [red.] Knobil and Neill's physiology of reproduction. New York, NY: Elsevier, 2006;949–975.
- [41] GUTTMAN JA, TAKAI Y, VOGL AW. Evidence that tubulobulbar complexes in the seminiferous epithelium are involved with internalization of adhesion junctions. *Biol Reprod* 2004; **71**: 548–559.

- [42] GYE MC. Expression of occludin in canine testis and epididymis. *Reprod Domest Anim* 2004; **39**: 43–47.
- [43] GYE MC, OHSAKO S. Effects of flutamide in the rat testis on the expression of occludin, an integral member of the tight junctions. *Toxicol Lett* 2003; **143**: 217–222.
- [44] HEDGER MP, HALES DB. Immunophysiology of the male reproductive tract. [w] NEILL JD [red.] Knobil and Neill's physiology of reproduction New York, NY: Elsevier, 2006; 1195–1286.
- [45] HEJMEJ A, KOPERA I, KOTULA–BALAK M, GIŻEJEWSKI Z, BILIŃSKA B. Age-dependent pattern of connexin43 expression in testes of European bison (*Bison bonasus*, L.). *J Exp Zool A Ecol Genet Physiol* 2009; **311**: 667–675.
- [46] HEJMEJ A, KOPERA I, KOTULA–BALAK M, LYDKA M, LENARTOWICZ M, BILIŃSKA B. Are expression and localization of tight and adherens junction proteins in testes of adult boar affected by fetal and neonatal exposure to flutamide? *Int J Androl* 2011; doi: 10.1111/j.1365–2605.2011.01206.x.
- [47] HEJMEJ A, KOTULA–BALAK M, SADOWSKAJ, BILIŃSKA B. Expression of connexin 43 protein in testes, epididymides and prostates of stallions. *Equine Vet J* 2007; **39**: 122–127.
- [48] HOLDCRAFT RW, BRAUN RE. Androgen receptor function is required in Sertoli cells for the terminal differentiation of haploid spermatids. *Development* 2004; **131**: 459–467.
- [49] HOLTFOFER B, WINDOFFER R, TROYANOVSKY S, LEUBE RE. Structure and function of desmosomes. *Int Rev Cytol* 2007; **264**: 65–163.
- [50] HULEIHEL M, LUNENFELD E. Regulation of spermatogenesis by paracrine/autocrine testicular factors. *Asian J Androl* 2004; **6**: 259–268.
- [51] JOHNSON KJ, BOEKELHEIDE K. Dynamic testicular adhesion junctions are immunologically unique. II. Localization of classic cadherins in rat testis. *Biol Reprod* 2002; **66**: 992–1000.
- [52] KAHIRI CN, KHALIL MW, TEKPEY F, KIDDER GM. Leydig cell function in mice lacking connexin43. *Reproduction* 2006; **132**: 607–616.
- [53] KAITU'U–LINO TJ, SLUKA P, FOO CF, STANTON PG. Claudin–11 expression and localisation is regulated by androgens in rat Sertoli cells in vitro. *Reproduction* 2007; **133**: 1169–1179.
- [54] KIERSZENBAUM AL, TRES LL. The acrosome-acroplaxome-manchette complex and the shaping of the spermatid head. *Arch Histol Cytol* 2004; **67**: 271–284.
- [55] KOMLJENOVIC D, SANDHOFF R, TEIGLER A, HEID H, JUST WW, GORGAS K. Disruption of blood–testis barrier dynamics in ether-lipid-deficient mice. *Cell Tissue Res* 2009; **337**: 281–299.
- [56] KOPERA I, DURLEJ M, HEJMEJ A, KNAPCZYK–STWORA K, DUDA M, SLOMCZYŃSKA M, BILIŃSKA B. Differential expression of connexin 43 in adult pig testes during normal spermatogenic cycle and after flutamide treatment. *Reprod Domest Anim* 2011; **46**: 1050–1060.
- [57] KOPERA I, DURLEJ M, HEJMEJ A, KNAPCZYK–STWORA K, DUDA M, SLOMCZYŃSKA M, KOZIOROWSKI M, BILIŃSKA B. Effects of pre- and postnatal exposure to flutamide on connexin 43 expression in testes and ovaries of prepubertal pigs. *Eur J Histochem* 2010; **54**: e15.
- [58] KOPERA IA, BILIŃSKA B, CHENG CY, MRUK DD. Sertoli-germ cell junctions in the testis: a review of recent data. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2010; **365**: 1593–1605.
- [59] KOPERA IA, SU L, BILIŃSKA B, CHENG CY, MRUK DD. An in vivo study on adjuvin and blood-testis barrier dynamics. *Endocrinology* 2009; **150**: 4724–4733.
- [60] KOTULA–BALAK M, HEJMEJ A, SADOWSKAJ, BILIŃSKA B. Connexin 43 expression in human and mouse testes with impaired spermatogenesis. *Eur J Histochem* 2007; **51**: 261–268.
- [61] KUMAR NM, GILULA NB. The gap junction communication channel. *Cell* 1996; **84**: 381–388.
- [62] LEBLOND CP, CLERMONT Y. Definition of the stages of the cycle of the seminiferous epithelium in the rat. *Ann N Y Acad Sci* 1952; **55**: 548–573.
- [63] LEE JH, CHOI KW, LEE SJ, GYE MC. Expression of beta–catenin in human testes with spermatogenic defects. *Arch Androl* 2005; **51**: 271–276.
- [64] LEE NP, LEUNG KW, WO JY, TAM PC, YEUNG WS, LUK JM. Blockage of testicular connexins induced apoptosis in rat seminiferous epithelium. *Apoptosis* 2006; **11**: 1215–1229.
- [65] LEE NP, MRUK D, LEE WM, CHENG CY. Is the cadherin/catenin complex a functional unit of cell-cell actin-based adherens junctions in the rat testis? *Biol Reprod* 2003; **68**: 489–508.
- [66] LEE NP, MRUK DD, CONWAY AM, CHENG CY. Zyxin, axin, and Wiskott-Aldrich syndrome protein are adaptors that link the cadherin/catenin protein complex to the cytoskeleton at adherens junctions in the seminiferous epithelium of the rat testis. *J Androl* 2004; **25**: 200–215.
- [67] LEE NP, WONG EW, MRUK DD, CHENG CY. Testicular cell junction: a novel target for male contraception. *Curr Med Chem* 2009; **16**: 906–915.
- [68] LEE TC, KIRK P, SNYDER F. Testosterone induction of microsomal acyl–CoA reductase and a cytosolic regulatory protein in mouse preputial glands. *Biochim Biophys Acta* 1986; **875**: 129–132.

- [69] LEVIN M. Gap junctional communication in morphogenesis. *Prog Biophys Mol Biol* 2007; **94**: 186–206.
- [70] LI MW, MRUK DD, LEE WM, CHENG CY. Connexin 43 and plakophilin-2 as a protein complex that regulates blood–testis barrier dynamics. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; **106**: 10213–10218.
- [71] LI MW, MRUK DD, LEE WM, CHENG CY. Connexin 43 is critical to maintain the homeostasis of the blood–testis barrier via its effects on tight junction reassembly. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; **107**: 17998–18003.
- [72] LIE PP, CHENG CY, MRUK DD. Crosstalk between desmoglein-2/desmocollin-2/Src kinase and coxsackie and adenovirus receptor/ZO-1 protein complexes, regulates blood-testis barrier dynamics. *Int J Biochem Cell Biol* 2010; **42**: 975–986.
- [73] LO CW. Genes, gene knockouts, and mutations in the analysis of gap junctions. *Dev Genet* 1999; **24**: 1–4.
- [74] LOSS ES, JACOBSEN M, COSTA ZS, JACOBUS AP, BORELLI F, WASSERMANN GF. Testosterone modulates K(+)ATP channels in Sertoli cell membrane via the PLC-PIP2 pathway. *Horm Metab Res* 2004; **36**: 519–525.
- [75] LYG FM, JONES GR, ROMMERTS FF. Rapid androgen actions on calcium signaling in rat sertoli cells and two human prostatic cell lines: similar biphasic responses between 1 picomolar and 100 nanomolar concentrations. *Biol Reprod* 2000; **63**: 736–747.
- [76] MARGADANT C, FRIJNS E, WILHELMSSEN K, SONNENBERG A. Regulation of hemidesmosome disassembly by growth factor receptors. *Curr Opin Cell Biol* 2008; **20**: 589–596.
- [77] MATSUO Y, NOMATA K, EGUCHI J, AOKI D, HAYASHI T, HISHIKAWA Y, KANETAKE H, SHIBATA Y, KOJI T. Immunohistochemical analysis of connexin43 expression in infertile human testes. *Acta Histochem Cytochem* 2007; **40**: 69–75.
- [78] MAZAUD-GUITTOT S, MEUGNIER E, PESENTI S, WU X, VIDAL H, GOWA, LE MAGUERESSE-BATTISTONI B. Claudin-11 deficiency in mice results in loss of the Sertoli cell epithelial phenotype in the testis. *Biol Reprod* 2010; **82**: 202–213.
- [79] MCLACHLAN RI, WREFORD NG, O'DONNELL L, DE KRETZER DM, ROBERTSON DM. The endocrine regulation of spermatogenesis: independent roles for testosterone and FSH. *J Endocrinol* 1996; **148**: 1–9.
- [80] MENG J, HOLDCRAFT RW, SHIMA JE, GRISWOLD MD, BRAUN RE. Androgens regulate the permeability of the blood–testis barrier. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; **102**: 16696–16700.
- [81] MESNIL M. Connexins and cancer. *Biol Cell* 2002; **94**: 493–500.
- [82] MINER JH. Laminins and their roles in mammals. *Microsc Res Tech* 2008; **71**: 349–356.
- [83] MINER JH, YURCHENCO PD. Laminin functions in tissue morphogenesis. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2004; **20**: 255–284.
- [84] MIRZA M, HREINSSON J, STRAND ML, HOVATTA O, SODER O, PHILIPSON L, PETTERSSON RF, SOLLERBRANT K. Coxsackievirus and adenovirus receptor (CAR) is expressed in male germ cells and forms a complex with the differentiation factor JAM-C in mouse testis. *Exp Cell Res* 2006; **312**: 817–830.
- [85] MORROW CM, TYAGI G, SIMON L, CARNES K, MURPHY KM, COOKE PS, HOFMANN MC, HESS RA. Claudin 5 expression in mouse seminiferous epithelium is dependent upon the transcription factor ets variant 5 and contributes to blood-testis barrier function. *Biol Reprod* 2009; **81**: 871–879.
- [86] MRUK DD, CHENG CY. Cell-cell interactions at the ectoplasmic specialization in the testis. *Trends Endocrinol Metab* 2004; **15**: 439–447.
- [87] MRUK DD, CHENG CY. Sertoli-Sertoli and Sertoli-germ cell interactions and their significance in germ cell movement in the seminiferous epithelium during spermatogenesis. *Endocr Rev* 2004; **25**: 747–806.
- [88] MRUK DD, CHENG CY. Desmosomes in the testis: Moving into an uncharted territory. *Spermatogenesis* 2011; **1**: 47–51.
- [89] MRUK DD, SILVESTRINI B, CHENG CY. Anchoring junctions as drug targets: role in contraceptive development. *Pharmacol Rev* 2008; **60**: 146–180.
- [90] OYAMADA M, OYAMADA Y, TAKAMATSU T. Regulation of connexin expression. *Biochim Biophys Acta* 2005; **1719**: 6–23.
- [91] PARK CJ, LEE JE, OH YS, SHIM S, KIM DM, PARK NC, PARK HJ, GYE MC. Postnatal changes in the expression of claudin-11 in the testes and excurrent ducts of the domestic rabbit (*Oryctolagus cuniculus domesticus*). *J Androl* 2011; **32**: 295–306.
- [92] PELLEGRINI M, CLAPS G, ORLOVA VV, BARRIOS F, DOLCI S, GEREMIA R, ROSSI P, ROSSI G, ARNOLD B, CHAVAKIS T, FEIGENBAUM L, SHARAN SK, NUSSENZWEIG A. Targeted JAM-C deletion in germ cells by Spo11-controlled Cre recombinase. *J Cell Sci* 2011; **124**: 91–99.

- [93] PELLETIER RM. The distribution of connexin 43 is associated with the germ cell differentiation and with the modulation of the Sertoli cell junctional barrier in continual (guinea pig) and seasonal breeders' (mink) testes. *J Androl* 1995; **16**: 400–409.
- [94] PELLETIER RM, OKAWARA Y, VITALE ML, ANDERSON JM. Differential distribution of the tight-junction-associated protein ZO-1 isoforms alpha+ and alpha- in guinea pig Sertoli cells: a possible association with F-actin and G-actin. *Biol Reprod* 1997; **57**: 367–376.
- [95] PEREZ-MORENO M, JAMORA C, FUCHS E. Sticky business: orchestrating cellular signals at adherens junctions. *Cell* 2003; **112**: 535–548.
- [96] PFEIFFER DC, VOGL AW. Evidence that vinculin is co-distributed with actin bundles in ectoplasmic („junctional”) specializations of mammalian Sertoli cells. *Anat Rec* 1991; **231**: 89–100.
- [97] PHILIPSON L, PETTERSSON RF. The coxsackie-adenovirus receptor – a new receptor in the immunoglobulin family involved in cell adhesion. *Curr Top Microbiol Immunol* 2004; **273**: 87–111.
- [98] POINTIS G, GILLERON J, CARETTE D, SEGRETAIN D. Physiological and physiopathological aspects of connexins and communicating gap junctions in spermatogenesis. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2010; **365**: 1607–1620.
- [99] RASCHPERGER E, THYBERG J, PETTERSSON S, PHILIPSON L, FUXE J, PETTERSSON RF. The coxsackie- and adenovirus receptor (CAR) is an in vivo marker for epithelial tight junctions, with a potential role in regulating permeability and tissue homeostasis. *Exp Cell Res* 2006; **312**: 1566–1580.
- [100] RISLEY MS. Connexin gene expression in seminiferous tubules of the Sprague-Dawley rat. *Biol Reprod* 2000; **62**: 748–754.
- [101] RISLEY MS, TAN IP, ROY C, SAEZ JC. Cell-, age- and stage-dependent distribution of connexin43 gap junctions in testes. *J Cell Sci* 1992; **103** (Pt 1): 81–96.
- [102] ROSCOE WA, BARR KJ, MHAWIAA, POMERANTZ DK, KIDDER GM. Failure of spermatogenesis in mice lacking connexin43. *Biol Reprod* 2001; **65**: 829–838.
- [103] RUSSELL L. Desmosome-like junctions between Sertoli and germ cells in the rat testis. *Am J Anat* 1977; **148**: 301–312.
- [104] RUSSELL L, CLERMONT Y. Anchoring device between Sertoli cells and late spermatids in rat seminiferous tubules. *Anat Rec* 1976; **185**: 259–278.
- [105] RUSSELL LD. Movement of spermatocytes from the basal to the adluminal compartment of the rat testis. *Am J Anat* 1977; **148**: 313–328.
- [106] RUSSELL LD. Observations on the inter-relationships of Sertoli cells at the level of the blood- testis barrier: evidence for formation and resorption of Sertoli–Sertoli tubulobulbar complexes during the spermatogenic cycle of the rat. *Am J Anat* 1979; **155**: 259–279.
- [107] RUSSELL LD. Spermatid-Sertoli tubulobulbar complexes as devices for elimination of cytoplasm from the head region late spermatids of the rat. *Anat Rec* 1979; **194**: 233–246.
- [108] RUSSELL LD. Morphological and functional evidence for Sertoli–germ cell relationships. [w] RUSSELL LD, GRISWOLD, M. D. [red.] The Sertoli cell. Clearwater: Cache River Press, 1993; 365–390.
- [109] RUSSELL LD, GOH JC, RASHED RM, VOGL AW. The consequences of actin disruption at Sertoli ectoplasmic specialization sites facing spermatids after in vivo exposure of rat testis to cytochalasin D. *Biol Reprod* 1988; **39**: 105–118.
- [110] RUTTINGER C, BERGMANN M, FINK L, PESCH S, SEITZ K, TRAUTMANN A, STEGER K, KONRAD L, BREHM R. Expression of connexin 43 in normal canine testes and canine testicular tumors. *Histochem Cell Biol* 2008; **130**: 537–548.
- [111] SAITOU M, FURUSE M, SASAKI H, SCHULZKE JD, FROMM M, TAKANO H, NODATA T, TSUKITA S. Complex phenotype of mice lacking occludin, a component of tight junction strands. *Mol Biol Cell* 2000; **11**: 4131–4142.
- [112] SAKAGUCHI T, NISHIMOTO M, MIYAGI S, IWAMA A, MORITA Y, IWAMORI N, NAKAUCHI H, KIYONARI H, MURAMATSU M, OKUDA A. Putative „stemness” gene jam-B is not required for maintenance of stem cell state in embryonic, neural, or hematopoietic stem cells. *Mol Cell Biol* 2006; **26**: 6557–6570.
- [113] SALIAN S, DOSHI T, VANAGE G. Neonatal exposure of male rats to Bisphenol A impairs fertility and expression of sertoli cell junctional proteins in the testis. *Toxicology* 2009; **265**: 56–67.
- [114] SEGRETAIN D, DECROUY X, DOMPIERRE J, ESCALIER D, RAHMAN N, FIORINI C, MOGRABI B, SIFFROI JP, HUHTANIEMI I, FENICHEL P, POINTIS G. Sequestration of connexin43 in the early endosomes: an early event of Leydig cell tumor progression. *Mol Carcinog* 2003; **38**: 179–187.

- [115] SETCHELL BP. Blood–testis barrier, junctional and transport proteins and spermatogenesis. [w] CHENG CY [red.] Molecular mechanisms in spermatogenesis. Texas, USA: Landes Bioscience and Springer Science+Business Media, LLC, 2008;212–233.
- [116] SHANG Y, MYERS M, BROWN M. Formation of the androgen receptor transcription complex. *Mol Cell* 2002; **9**: 601–610.
- [117] SHAO M, GHOSHA, COOKE VG, NAIK UP, MARTIN–DELEON PA. JAM-A is present in mammalian spermatozoa where it is essential for normal motility. *Dev Biol* 2008; **313**: 246–255.
- [118] SHUPE J, CHENG J, PURI P, KOSTEREVAN, WALKER WH. Regulation of Sertoli-germ cell adhesion and sperm release by FSH and nonclassical testosterone signaling. *Mol Endocrinol*; **25**: 238–252.
- [119] SIU MK, CHENG CY. Interactions of proteases, protease inhibitors, and the beta1 integrin/laminin gamma3 protein complex in the regulation of ectoplasmic specialization dynamics in the rat testis. *Biol Reprod* 2004; **70**: 945–964.
- [120] SIU MK, MRUK DD, LEE WM, CHENG CY. Adhering junction dynamics in the testis are regulated by an interplay of beta 1-integrin and focal adhesion complex-associated proteins. *Endocrinology* 2003; **144**: 2141–2163.
- [121] SOBARZO CM, LUSTIG L, PONZIO R, SUESCUN MO, DENDUCHIS B. Effects of di(2-ethylhexyl) phthalate on gap and tight junction protein expression in the testis of prepubertal rats. *Microsc Res Tech* 2009; **72**: 868–877.
- [122] SOHL G, WILLECKE K. Gap junctions and the connexin protein family. *Cardiovasc Res* 2004; **62**: 228–232.
- [123] SRIDHARAN S, SIMON L, MELING DD, CYR DG, GUTSTEIN DE, FISHMAN GI, GUILLOU F, COOKE PS. Proliferation of adult Sertoli cells following conditional knockout of the Gap junctional protein GJA1 (connexin 43) in mice. *Biol Reprod* 2007; **76**: 804–812.
- [124] STEGER K, TETENS F, BERGMANN M. Expression of connexin 43 in human testis. *Histochem Cell Biol* 1999; **112**: 215–220.
- [125] SU L, MRUK DD, LEE WM, CHENG CY. Differential effects of testosterone and TGF-beta3 on endocytic vesicle-mediated protein trafficking events at the blood–testis barrier. *Exp Cell Res* 2010; **316**: 2945–2960.
- [126] SWINNEN JV, ESQUENET M, GOOSSENS K, HEYNS W, VERHOEVEN G. Androgens stimulate fatty acid synthase in the human prostate cancer cell line LNCaP. *Cancer Res* 1997; **57**: 1086–1090.
- [127] TAN IP, ROY C, SAEZ JC, SAEZ CG, PAUL DL, RISLEY MS. Regulated assembly of connexin33 and connexin43 into rat Sertoli cell gap junctions. *Biol Reprod* 1996; **54**: 1300–1310.
- [128] TANII I, YOSHINAGA K, TOSHIMORI K. Morphogenesis of the acrosome during the final steps of rat spermiogenesis with special reference to tubulobulbar complexes. *Anat Rec* 1999; **256**: 195–201.
- [129] VOGLAW, PFEIFFER DC, MULHOLLAND D, KIMEL G, GUTTMAN J. Unique and multifunctional adhesion junctions in the testis: ectoplasmic specializations. *Arch Histol Cytol* 2000; **63**: 1–15.
- [130] VOGLAW, PFEIFFER, D.C., REDENBACH, D.M., GROVE, B.D. Sertoli cell cytoskeleton. [w] RUSSELL L.D. GMD [red.] The Sertoli cell. Clearwater: FL: Cache River Press, 1993;39–86.
- [131] VON LEDEBUR EI, ALMEIDA JP, LOSS ES, WASSERMANN GF. Rapid effect of testosterone on rat Sertoli cell membrane potential. Relationship with K+ATP channels. *Horm Metab Res* 2002; **34**: 550–555.
- [132] WALKER WH. Non-classical actions of testosterone and spermatogenesis. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2010; **365**: 1557–1569.
- [133] WALKER WH. Testosterone signaling and the regulation of spermatogenesis. *Spermatogenesis* 2011; **1**:2: 116–120.
- [134] WANG CQ, MRUK DD, LEE WM, CHENG CY. Coxsackie and adenovirus receptor (CAR) is a product of Sertoli and germ cells in rat testes which is localized at the Sertoli–Sertoli and Sertoli–germ cell interface. *Exp Cell Res* 2007; **313**: 1373–1392.
- [135] WANG RS, YEH S, CHEN LM, LIN HY, ZHANG C, NIJ, WU CC, DI SANT’AGNESE PA, DEMESY–BENTLEY KL, TZENG CR, CHANG C. Androgen receptor in sertoli cell is essential for germ cell nursery and junctional complex formation in mouse testes. *Endocrinology* 2006; **147**: 5624–5633.
- [136] WASCHKE J. The desmosome and pemphigus. *Histochem Cell Biol* 2008; **130**: 21–54.
- [137] 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.
- [138] WEIDER K, BERGMANN M, BREHM R. Connexin 43: its regulatory role in testicular junction dynamics and spermatogenesis. *Histol Histopathol* 2011; **26**: 1343–1352.

- [139] WILLEMS A, BATLOUNI SR, ESNALA, SWINNEN JV, SAUNDERS PT, SHARPE RM, FRANCALR, DE GENDT K, VERHOEVEN G. Selective ablation of the androgen receptor in mouse Sertoli cells affects Sertoli cell maturation, barrier formation and cytoskeletal development. *PLoS One* 2010; **5**: e14168.
- [140] WINE RN, CHAPIN RE. Adhesion and signaling proteins spatiotemporally associated with spermiation in the rat. *J Androl* 1999; **20**: 198–213.
- [141] WOLSKI KM, PERRAULT C, TRAN–SON–TAY R, CAMERON DF. Strength measurement of the Sertoli-spermatid junctional complex. *J Androl* 2005; **26**: 354–359.
- [142] WONG CH, CHENG CY. The blood–testis barrier: its biology, regulation, and physiological role in spermatogenesis. *Curr Top Dev Biol* 2005; **71**: 263–296.
- [143] WONG CH, MRUK DD, LUI WY, CHENG CY. Regulation of blood-testis barrier dynamics: an in vivo study. *J Cell Sci* 2004; **117**: 783–798.
- [144] WONG EW, MRUK DD, CHENG CY. Biology and regulation of ectoplasmic specialization, an atypical adherens junction type, in the testis. *Biochim Biophys Acta* 2008; **1778**: 692–708.
- [145] WROBEL KH, MADEMANN R, SINOWATZ F. The lamina propria of the bovine seminiferous tubule. *Cell Tissue Res* 1979; **202**: 357–377.
- [146] XIA W, WONG CH, LEE NP, LEE WM, CHENG CY. Disruption of Sertoli-germ cell adhesion function in the seminiferous epithelium of the rat testis can be limited to adherens junctions without affecting the blood-testis barrier integrity: an in vivo study using an androgen suppression model. *J Cell Physiol* 2005; **205**: 141–157.
- [147] XU J, ANUAR F, ALI SM, NG MY, PHUA DC, HUNZIKER W. Zona occludens-2 is critical for blood–testis barrier integrity and male fertility. *Mol Biol Cell* 2009; **20**: 4268–4277.
- [148] YAMADA S, POKUTTA S, DREES F, WEIS WI, NELSON WJ. Deconstructing the cadherin-catenin-actin complex. *Cell* 2005; **123**: 889–901.
- [149] YAN HH, CHENG CY. Laminin alpha 3 forms a complex with beta3 and gamma3 chains that serves as the ligand for alpha 6beta1-integrin at the apical ectoplasmic specialization in adult rat testes. *J Biol Chem* 2006; **281**: 17286–17303.
- [150] YAN HH, MRUK DD, LEE WM, CHENG CY. Ectoplasmic specialization: a friend or a foe of spermatogenesis? *Bioessays* 2007; **29**: 36–48.
- [151] YAN HH, MRUK DD, LEE WM, CHENG CY. Blood-testis barrier dynamics are regulated by testosterone and cytokines via their differential effects on the kinetics of protein endocytosis and recycling in Sertoli cells. *FASEB J* 2008; **22**: 1945–1959.
- [152] YAN HH, MRUK DD, WONG EW, LEE WM, CHENG CY. An autocrine axis in the testis that coordinates spermiation and blood–testis barrier restructuring during spermatogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; **105**: 8950–8955.
- [153] YOUNG JS, GUTTMAN JA, VAID KS, SHAHINIAN H, VOGL AW. Cortactin (CTTN), N-WASP (WASP), and clathrin (CLTC) are present at podosome-like tubulobulbar complexes in the rat testis. *Biol Reprod* 2009; **80**: 153–161.
- [154] YOUNG JS, GUTTMAN JA, VAID KS, VOGLAW. Tubulobulbar complexes are intercellular podosome-like structures that internalize intact intercellular junctions during epithelial remodeling events in the rat testis. *Biol Reprod* 2009; **80**: 162–174.

Redaktor prowadzący – Michał Nowicki

Otrzymano: 26.10.2011 r.

Przyjęto: 9.12.2011 r.

Barbara Bilińska

Zakład Endokrynologii, Instytut Zoologii, Uniwersytet Jagielloński

ul. Gronostajowa 9

30-087 Kraków

e-mail: barbara.bilinska@uj.edu.pl

Warunki otrzymywania czasopisma

- złożenie zamówienia: faxem, pocztą itp.
- jednoczesne dokonanie wpłaty na konto:

Fundacja Biologii Komórki i Biologii Molekularnej w Warszawie
Nr konta w ING Banku Śląskim: 33 1050 1041 1000 0023 0505 6257.

- po otrzymaniu wpłaty wystawiamy fakturę VAT.

W sytuacji, kiedy wpłata nastąpi w trakcie trwania prenumeraty, wysyłamy wszystkie zeszyty (numery) czasopisma, które ukazały się w okresie objętym prenumeratą.

Warunki prenumeraty kwartalnika PBK

Prenumerata roczna

Redakcja przyjmuje opłatę prenumeraty na rok 2012 pod adresem:

FUNDACJA BIOLOGII KOMÓRKI I BIOLOGII MOLEKULARNEJ

ul. Marymoncka 99, 01-813 Warszawa; tel. (22) 5693830, fax. (22) 5693712

email: jkawiak@cmkp.edu.p

na konto: FUNDACJA BIOLOGII KOMÓRKI I BIOLOGII MOLEKULARNEJ

ul. Marymoncka 99, 01-813 Warszawa; ING Bank Śląski 33 1050 1041 1000 0023 0505 6257

Cena prenumeraty rocznika wynosi	na rok 2012
dla instytucji (bibliotek)	250 zł + 5% VAT
dla odbiorców indywidualnych	100 zł + 5% VAT

Subscription orders for POSTĘPY BIOLOGII KOMÓRKI for 2012

should be placed at local press distributors or directly at Editorial Board of
POSTĘPY BIOLOGII KOMÓRKI, Marymoncka str. 99, 01-813 Warszawa /Poland
tel. (22) 5693830, fax. (22) 5693712, email: jkawiak@cmkp.edu.pl

On account: FUNDACJA BIOLOGII KOMÓRKI I BIOLOGII MOLEKULARNEJ

ul. Marymoncka 99, 01-813 Warszawa; ING Bank Śląski 33 1050 1041 1000 0023 0505 6257

Price per year 80 dollars USA or 55 euro

Cennik dla Autorów odbitek, rycin i druku w 2012 r.

	odbitek prac		pdf	barwne ryciny	str. druku (ponad 15)
Liczba odbitek	50	100	200	–	1 szt.
Cena zł	100,00	120,00	150,00	200,00	400,0 50,00

Zamówienie na odbitki musi być złożone wraz z przesłaną korektą pracy.

Do ceny należy doliczyć 5% VAT.

KOMUNIKAT

Prosimy Autorów, aby nadsyłali maszynopisy swoich prac bezpośrednio do właściwych redaktorów, albo na adres doc. dr hab. M. Nowicki, Katedra i Zakład Histologii i Embriologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, ul. Święcickiego 6, 60-7781 Poznań (mnowicki@umo.edu.pl), ew. na dotychczasowy adres: Jerzy Kawiak, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, ul. Marymoncka 99, 01-813 Warszawa (jkawiak@cmkp.edu.pl).



Informujemy, że od roku 2011 „Postępy Biologii Komórki” mają impact factor (IF)=0.077.

Może to być interesujące dla Autorów naszego czasopisma. Kopia fragmentu komunikatu otrzymanego w tej sprawie poniżej.

Tytuł	PL ISSN	IF					
POSTEPY BIOL KOMORKI	0324-833X	35	0.077	0.039	51		4.7

Redakcja „Postępów Biologii Komórki”
12.12.2011