



Memeli Testisinde Kan-Testis Bariyeri'nin Bileşenleri ve Üreme ile İlişkileri

Betül FİDAN^{1,a}, Narin LİMAN^{2,b}

¹Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

²Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

ORCID: ^a0000-0002-7620-8524; ^b0000-0001-5489-2719

Sorumlu yazar: Narin LİMAN; E-posta: limann@erciyes.edu.tr; narinliman@gmail.com

How to cite: Fidan B, Liman N. Memeli testisinde kan-testis bariyeri'nin bileşenleri ve üreme ile ilişkileri. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2023; 20(2):141-151

Öz: Memelilerde vücudun bazı özel bölümlerindeki moleküllerin kan ve dokular arasındaki hareketi "kan-doku bariyeri" adı verilen yapılar tarafından kontrol edilir. Bu bariyerlerin başlıcaları kan-beyin, -plasenta, -retina, -timus, -testis ve -epididimis bariyerleridir. Kan-testis bariyeri (BTB) ve kan-epididimis bariyeri (BEB) erkek üreme sistemindeki iki önemli hücresel bariyerdir. Seminifer epitelde yerleşen ve komşu Sertoli hücreleri arasında bulunan BTB, tight junction, gap junction (geçit bağlantıları), desmozom (macula adherens) ve adherens junction (bazal ektoplazmik özelleşme-testiste özgü bir yapışma bağlantısı) tipi bağlantılar tarafından oluşturulur. Bu bariyer gelişmekte olan germ hücrelerini, özellikle postmayotik spermatidleri, kan ve lenf yoluyla buraya taşınan zararlı ajanlardan (ilaçlar, toksik kimyasallar ve mutajenler gibi) koruyan ve farklılaşmış germ hücrelerine karşı oluşabilecek otoimmün tepkileri önleyen biyokimyasal ve immünolojik bir mikro çevre oluşturur. BTB seminifer tübül epitelini bazal ve adluminal bölmelere ayırarak hücre polaritesi sağlar ve tübül lümenindeki sıvının kimyasal bileşiminin korunmasına yardımcı olur. BTB spermatogenez sırasında yeniden yapılanmaya uğrar, ancak bütünlüğü bozulmaz. Böylece germ hücreleri bu benzersiz yapı sayesinde seminifer epitel boyunca taşınır. Bariyeri oluşturan bileşenlerden herhangi birinde bozulma olması durumunda germ hücreleri gelişimlerini tamamlayamaz ve erkeklerde infertilite şekillenir. Ayrıca, gelişmemiş germ hücreleri sekonder oositi döleyemediğinden dişi fertilitesi de dolaylı olarak bu durumdan etkilenebilir. Özetle bu bariyer germ hücrelerinin hayatta kalması ve normal spermatogenezin devamlılığı için kritik bir öneme sahiptir. Bu derlemenin amacı, memelilerde erkek infertilitesinde önemli rol oynayan kan-testis bariyerini oluşturan bağlantı komplekslerinin moleküler bileşenleri hakkında bilgi vermektir.

Anahtar kelimeler: Kan-testis bariyeri, sıkı bağlantılar, testis, tutundurucu bağlantılar

Components of the Blood-Testis Barrier in the Mammalian Testis and Their Relationship with Fertility

Abstract: In some special parts of the mammalian body, the movement of molecules between blood and tissues is controlled by structures called "blood-tissue barriers." These barriers are mainly the blood-brain, -placenta, -retina, -thymus, -testis, and -epididymis barriers. The blood-testis barrier (BTB) and the blood-epididymis barrier (BEB) are the two important cellular barriers in the male reproductive system. BTB is localized between adjacent Sertoli cells in the seminiferous epithelium of the testis and is formed by tight junctions, GAP junctions, desmosomes (macula adherens), and adherens junctions (ectoplasmic specialization-a testis-specific adhesion junction). The BTB creates a biochemical and immunological microenvironment that protects developing germ cells, especially post-meiotic spermatids, from harmful agents (such as drugs, toxic chemicals, and mutagens) carried there by blood and lymph and that prevents autoimmune responses against differentiated germ cells. The BTB divides the seminiferous tubule epithelium into basal and adluminal compartments, ensuring cell polarity and helping to maintain the chemical composition of the fluid in the tubule lumen. BTB undergoes remodeling during spermatogenesis, but its integrity remains intact. Thus, thanks to this unique structure, the germ cells are transported across the seminiferous epithelium. Any disruption in the components that make up the barrier can adversely affect Sertoli-germ cell interactions, preventing germ cells from completing their development and leading to male infertility. In addition, female fertility may be indirectly affected as immature germ cells cannot fertilize the secondary oocyte. In summary, this barrier is critical for germ cell survival and maintenance of normal spermatogenesis. This review aims to provide information about the molecular components of the junction complexes that form the blood-testis barrier, which plays an important role in male infertility in mammals.

Keywords: Adherens junction, blood-testis barrier, testis, tight junction

Giriş

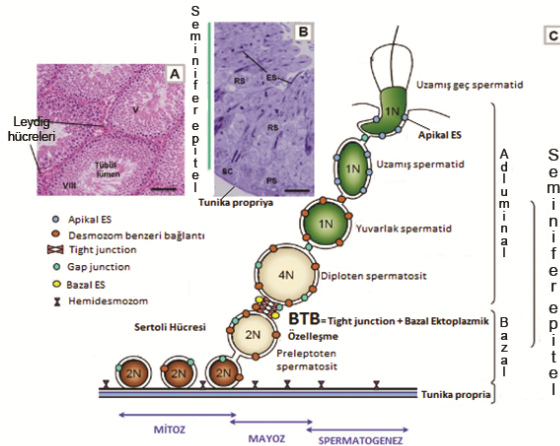
Memeli testisleri, erkek üreme hücresi olan spermiumları ve erkeklik hormonları olan androjenleri üre-

ten bir çift organdır. Testis dokusu başlıca seminifer tübüller ve interstisyum olmak üzere iki bölümden oluşur. Spermatogenezin gerçekleştiği kanalcıklar olan seminifer tübüller somatik Sertoli hücreleri ile germ hücrelerini (spermatogonyum, spermatosit ve spermatid) içeren çok katlı epitelle örtülüdürler. Sertoli hücreleri, seminifer tübülün bazal membranından

Geliş Tarihi/Submission Date : 23.12.2022

Kabul Tarihi/Accepted Date : 14.03.2023

lumenine kadar uzanan polarize epitel hücreleridir. Bu hücreler seminifer epitelinin bazal ve adluminal olmak üzere iki bölme (kompartıman) ayıran kan-testis bariyerini oluştururlar. Spermatogonyum ve preleptoten spermatositler bazal bölmede bulunurken, primer ve sekonder spermatositler, yuvarlak ve uzayan/uzamış spermatidler adluminal bölmede bulunur (Şekil 1). Seminifer tübüller etrafında motilite yeteneği olmayan, spermatozoanın tübül lümeninden epididimise atılmasında görevli kontraktıl peritübüler miyoid hücreler bulunur. İnterstisyum ise androjenlerin üretiminden sorumlu olan Leydig hücrelerinin yanı sıra fibroblastları, makrofajları, lenfositleri, dendritik hücreleri, mast hücrelerini, kan ve lenf damarlarını içeren bağ dokudan oluşur (Mruk ve Cheng, 2015).



Şekil 1. Spermatogenez sürecinde Sertoli hüresi-Sertoli hüresi ve Sertoli hüresi-germ hüresi sıkı bağlantılarının lokalizasyonu (Cheng and Mruk, 2009).

Spermatogenez

Spermatogenez, erkeklerde diploid spermatogonyal kök hücrelerden haploid germ hücrelerinin (spermatozoa) oluştuğu hücresel dönüşüm sürecidir. Bu döngü, memeli testisinin fonksiyonel birimi olan seminifer tübüller içinde, Sertoli hücrelerinin yapısal ve besinsel desteği ile çeşitli endokrin faktörlerin kontrolü altında gerçekleşir (Hess ve Renato de Franca, 2008).

Spermatogenez, birbiriyle ilişkili ancak birbirinden farklı dört hücreyel olaydan oluşur:

Mitoz bölünme ve farklılaşma (diferensiyasyon): Seminifer tübüllerde bazal lamina üzerinde yerleşen A tipi spermatogonyanın çoğalması ve bazılarının B tipi spermatogonyaya farklılaşması aşamasıdır. Bu faz seminifer tübüllerin bazal kompartmanında gerçekleşir. B tipi spermatogonyumlar da preleptoten ve leptoten spermatositlere farklılaşırlar.

Mayoz bölünme: Primer spermatositlerin birinci mayoz bölünme ile sekonder spermatositleri, sekonder spermatositlerin de ikinci mayoz bölünme ile haploid spermatidleri oluşturduğu aşamadır. Bu aşama büyük ölçüde tübülün adluminal kompartmanında gerçekleşir.

Spermiyogenez: Spermatidlerin spermatozoaya morfolojizidir. Spermiyogenez süreci, dört aşamaya ayrılır: Golgi aşaması, akrozom aşaması, kuyruk oluşumu, olgunlaşma aşaması.

Spermiasyon: Bu aşamada gelişimini tamamlayan Sertoli hücrelerinden ayrılarak seminifer epitelini terk eder ve rete testise iletilir. Bu olay adluminal bölmede gerçekleşir (Fiorini ve ark., 2004).

Seminifer tübülde birbirini takip eden bu hücreyel gelişim evreleri spermatogonyal döngüyü (spermatogonyal siklus) oluşturur. Spermatogonyal döngü germ hücrelerinin morfolojik değişikliklerine, varlığına, konumuna veya spermatidlerdeki akrozomun gelişimine göre aşamalara ayrılır. Bu aşamaların sayısı türlere göre değişmekte olup, insanda 6, sıçan ve farede 14, boğa, koç, kedi, köpek ve atta 8 aşama bulunmaktadır (Johnson, 1995; Liman ve ark., 2013). Bu aşamalar seminifer tübül boyunca seminifer epitel dalgasına (spermatogonyal dalgası) yol açmaktadır (Cheng ve Mruk, 2002).

Kan-Testis Bariyeri (BTB)

Memeli vücudunda kan-beyin bariyeri, kan-hava bariyeri, kan-retina bariyeri, kan-timüs bariyeri, kan-plasenta bariyeri gibi birçok bariyer mevcuttur. Kan-testis ve kan-epididimis bariyerleri de erkek genital sistemde bulunan önemli hücreyel bariyerlerdendir. Kan testis bariyerinin üç ana bileşenden oluştuğu kabul edilir:

- Sertoli hücre bağlantılarından oluşan fiziksel bariyer,
- Maddelerin lümenenden lümenine hareketini kontrol eden, Sertoli hücre taşıyıcılarından oluşan fizyolojik bariyer,
- Bağıışıklık düzenleyici faktörler ve tolerans mekanizmalarının sağladığı immünolojik bariyer.

Bu üç bileşen, BTB'de koordineli hareket ederek fonksiyonel olarak adluminal bölge içinde mayotik ve post-mayotik germ hücre olgunlaşması için hem immünolojik hem de biyokimyasal olarak uygun bir ortam sağlar. Fiziksel bariyerler, moleküllerin lümenine geçişini kısıtlarken, Sertoli hücrelerinin bazolateral ve apikal membranları boyunca yer alan spesifik taşıyıcılar, moleküllerin lümen içine veya dışına hareketini düzenler (Stanton, 2016).

Testiste, damar endotelinin geçirgenliği oldukça faz-

ladır ve bu sayede dolaşımdaki maddeler interstisyuma serbestçe geçebilir (Kaur ve ark., 2013). Ayrıca seminifer tübüllerin lümenindeki sıvı, plazmaya göre daha az protein ve glikoz, daha fazla androjen, östrojen ve potasyum içerir. Hem seminifer tübül duvarında gelişmekte olan germ hücrelerinin ve hem de tübül lümenindeki sıvının içeriğinin korunması için kan-testis bariyerinin varlığı büyük önem taşımaktadır. Kan-testis bariyerinin birinci işlevi Sertoli hücrelerinin arasından seminifer tübül lümenine doğru su, elektrolitler, iyonlar, hormonlar, parakrin faktörler ve çeşitli biyolojik moleküllerin geçişini kısıtlamaktır. İkinci işlevi ise preleptoten evresinden itibaren bazal kompartmandan adluminal kompartmana geçmiş olan spermatozoidlerin izole bir mikro çevrede spermatogenezini tamamlamasını sağlamaktadır (Mruk ve Cheng, 2004). BTB, hem lökositlerin ve spermiyogenezis sırasında oluşabilecek anti-sperm antikörlerinin (ASA) seminifer tübüllere girmesini engelleyerek, hem de mayoz bölünme için gerekli olan benzersiz bir immünolojik ve biyokimyasal mikro ortam oluşturarak infertiliteyi önler (Li ve ark., 2018).

Bu derlemede hücresele bir bariyer olan BTB'nin yapısına katılan bağlantı kompleksleri hakkında bilgi verilecektir.

Kan-Testis Bariyeri Bağlantı Kompleksleri ve Proteinleri

Kan-beyin bariyeri ve kan-retina bariyeri gibi diğer bariyer yapıları kapılar damarların endotel hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar (tight junction) ile damar dışında destekleyici olarak bulunan perisit ve perivasküler makrofajlardan meydana gelir. Memeli testislerinde seminifer tübül epitelinde bulunan BTB ise komşu Sertoli hücreleri arasında yerleşen özelleşmiş bağlantılar [tight junction'lar, sıkı bağlantılar, TJs), gap junction'lar (geçit bağlantıları), desmozomlar (macula adherens) ve adherens junction'lar (ektoplazmik özelleşmeler-testise özgü bir yapışma bağlantısı)] tarafından oluşturulur (Şekil 1). Bu bağlantıların spermatogenez ve fertilité için gerekli olan BTB bütünlüğünün korunmasında birlikte işlev gördüğü bilinmektedir (Cheng ve ark., 2011). BTB'de farklı bağlantı türlerinin bir arada bulunması veya birbirine karışması, bu bariyeri kan-beyin bariyeri ve kan-retina bariyeri gibi diğer tüm kan-doku bariyerlerinden farklı kılar (Wong ve Cheng, 2005).

Memelilerde BTB'nin gelişimi, pubertede seminifer tübüllerde ilk spermatogenez dalgasının şekillenmesi ile başlar. BTB, kemirgenlerde doğum sonrası, insanlarda ise ergenlik döneminde gelişir (Gerber ve ark., 2016). BTB'de, spermatozoidlerin seminifer epitelin adluminal kompartmanına girebilmeleri için döngüsel olarak yeniden yapılandırıldığına inanılmaktadır ve bu kısmen bağlantı proteinleri, sitokinler, proteazlar/proteaz inhibitörleri, hormonlar ve endositik/trafficking proteinleri gibi bir dizi molekül tarafından gerçekleştirilir (Mruk ve Cheng, 2004; Li ve ark., 2009).

Tıkayıcı Bağlantılar

1. Sıkı bağlantılar [Tight junction (TJ), Zonula occludens]

Sıkı bağlantılar, bitişik hücreler arasında hem geçirimsiz bir bariyer görevi görür hem de epitel hücrelerinde karakteristik olarak bulunarak hücresele bir polariite oluşturur. Bu durum özellikle seminifer tübüllerde, Sertoli hücreleri ve BTB'ler arasında oldukça belirgindir (Gerber ve ark., 2016). BTB'nin sıkı bağlantıları bazı yazarlar tarafından "Sertoli hücresi-Sertoli hücresi sıkı bağlantıları" olarak da adlandırılır. Bu bağlantılar, tübüllerin bazalindeki Sertoli hücreleri arasında ve Sertoli hücrelerine bağlı spermatozoidler arasındaki temas bölgelerinde bulunur (Mital ve ark., 2011).

Bu bağlantılar okludinler, klaudinler ve bağlantı adezyon moleküllerinden oluşmaları bakımından diğer epitel hücrelerinde bulunan sıkı bağlantılara benzer, ancak apikalden ziyade bazalde yer almalarından ötürü diğer epiteliyal sıkı bağlantılarına göre benzersiz olarak nitelendirilirler. Son veriler, sıkı bağlantı proteinleri ve sinyal molekülleri arasındaki fiziksel etkileşimlerin, sıkı bağlantının sinyal iletimi için bir platform olduğunu ve bu platformun bozulmasının Sertoli hücre fonksiyonunu etkileyebileceğini göstermektedir (Fiorini ve ark., 2004). Sertoli hücresi-Sertoli hücresi sıkı bağlantılarının kurucu proteinleri arasında integral transmembran proteinleri [okludin ve klaudinler], adaptör proteinler [zona okludens proteinleri 1, 2 ve 3 (TJP 1, 2 ve 3)] ve kavşak yapışma molekülleri [junctional adhesion molecules, JAMs] bulunmaktadır (Mitic ve ark., 2000).

1.1. İntegral transmembran proteinleri [Okludin ve klaudinler]

Okludin, dört transmembran alanı, bir hücre içi ve iki hücre dışı döngüsü olan 60 ila 65 kDa'lık, Ca²⁺den bağımsız hücreler arası adezyon (yapışma) molekülüdür. Sıçanlarda ve farelerde Sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantılarda bulunur, ancak kobay veya insanda bulunmaz (Cheng ve ark., 2001). Okludin, Sertoli hücrelerinde TJ'lara yerleşir ve paraselüler sızdırmazlığın oluşturulmasında da önemli bir rol oynar (Chung ve Cheng, 2001).

Klaudinler, dört transmembran alanı, kısa bir N-terminal ve daha uzun C-terminalinden oluşan küçük moleküler ağırlıklı (21-28 kDa) integral membran proteinleridir (Tsukita ve ark., 2001). Klaudinler TJ'ların sitoplazmik yüzeyinde, adaptör veya iskelet molekülleri, özellikle üç zonula okludens proteini (ZOP'ler: ZO-1, ZO-2 ve ZO-3) aracılığıyla aktin hücre iskeletine bağlanırlar (Xu ve ark., 2009). Memelilerde klaudinler en az 27 üyeden oluşur ve işlevlerine göre kategorize edilirler (Mineta ve ark., 2011). Geçirgenliği azaltan klaudinler "sıkı" veya sızdırmaz (veya bariyer oluşturan) klaudinler (1, 3, 5, 11, 14, 19) olarak adlandırılırken, geçirgenliği artıranlar "sızdıran"

veya kanal oluşturan" veya "por oluşturan klaudinler" olarak adlandırılır. Por oluşturan klaudinler de katyon seçici (2, 10b, 15) ve anyon seçici (10a, 17) klaudinler olarak ikiye ayrılır. Diğer iki grup ise tutarsız (4, 7, 8 ve 16) veya bilinmeyen (6, 9, 12, 13, 18, 20-27) işlevlere sahip klaudinler içerir (Amasheh ve ark., 2009). TJ'lar tipik olarak birden fazla klaudin izoformu içerir. Klaudinler tüm epitellerin sıkı bağlantılarında bulunur, ancak doku dağılımları spesifiktir ve türler arasında değişiklik gösterir (Günzel ve Yu, 2013; Liman ve Ateş, 2020). Bugüne kadar bazı memelilerin testislerinde yedi farklı klaudin (klaudin-1, -3, -4, -5, -7, -8 ve -11) bulunduğu gösterilmiştir (Mazaud-Guittot ve ark., 2010; McMillan ve ark., 2014; Stammler ve ark., 2016; Pörtner ve ark., 2020; Liman, 2023). Klaudin-11 testisteki Sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantılarda bulunur, ancak germ hücrelerinde bulunmaz (Siu ve Cheng, 2004). Klaudin -3 ve -4 hem TJ'lerin hem de bazal ektoplazmik özelleşmelerin (ES'ler) bir bileşenidir ve klaudin-3, yeni BTB oluşumunun bir göstergesi ve önemli bir aracısıdır (Li ve ark., 2018). Çeşitli çalışmalar, klaudin-11 geni bulunmayan (klaudin-11-null) farelerde Sertoli hücre polaritesinin ve TJ fonksiyonunun bozulduğunu ve bunun da infertilite ile sonuçlandığını, ayrıca klaudin-11'in testiste sıkı bağlantı oluşumu ve bariyer bütünlüğü için zorunlu bir protein olduğunu göstermişlerdir (Mazaud-Guittot ve ark., 2010; Stammler ve ark., 2016; Pörtner ve ark., 2020). Ayrıca, McMillan ve ark. (2014) klaudin-8'in siçir testisindeki spermatogonial kök hücre nişinde rol oynayabileceğini ileri sürmüştür.

1.2. Adaptör proteinler (Zonula okludens proteinleri, ZO)

Zonula okludens proteinleri membranla ilişkili guanilat kinaz (MAGUK) benzeri protein süper ailesine aittir. Bunlar, hücreler arası bağlantıların sitoplazmik yüzeyinde çok proteinli komplekslerin bir araya gelmesi için yapısal temel sağlayan iskelet proteinlerdir. Ayrıca aktin hücre iskeletine bağlanmak için okludin ve klaudin gibi integral membran TJ proteinleri tarafından kullanılan adaptör proteinlerdir. Hücre-hücre temaslarındaki yapısal işlevlerinin yanı sıra, ZO proteinlerinin hücre büyümesi ve çoğalmasının düzenlenmesine katıldığı görülmektedir. ZO proteinleri ZO-1 (TJP1), ZO-2 (TJP2) ve ZO-3 (TJP3) sıkı bağlantı proteini olmak üzere üç üyeden oluşur (González-Mariscal ve ark., 2000). Testiste bugüne kadar sadece ZO-1 ve ZO-2 pozitif olarak tanımlanmıştır ve ilk TJ periferik proteini ZO-1'dir (moleküler ağırlığı: 220 kDa) (Lui ve ark., 2003). Testiste, ZO-1 kan-testis bariyerine ve aynı zamanda uzamış spermatidleri çevreleyen apikal ektoplazmik özelleşmeye lokalize olur. ZO-1 ve ZO-2 ayrıca TJ montajı için gerekli olan klaudin polimerizasyonunu da destekler (Mruk ve Cheng, 2015). ZO-2, testisteki gap junction proteini olan Cx43 ile birleşir. Sertoli hücreleri arasındaki TJ'lerin yapısında ve ek olarak,

ZO-2 ayrıca germ hücreleri ve Sertoli hücreleri arasındaki yapışmada ve germ hücre göçü ve farklılaşması sırasında bağlantıların yeniden şekillenmesinde de rol oynar (Xu ve ark., 2009).

1.3. Bağlantı yapışma molekülü (Junction adhesion molecule, JAM)

Bağlantı yapışma molekülü (JAM), immünooglobulin süper ailesinin bir üyesi olan bir proteindir ve lökositler, trombositler, epitel ve endotel hücreleri gibi çeşitli dokularda ifade edilir (Ebnet, 2017). JAM, TJ'lerde tanımlanan üçüncü tip TJ-integral membran proteini-dir. Hem epitel hem de endotel hücreleri arasındaki sınıra lokalize olur. Ailenin birçok üyesi hücre polaritesine, endotel geçirgenliğine ve lökositlerin göçüne aracılık eder (Garrido-Urbani ve ark., 2014). JAM ailesinin birkaç üyesi, ZO-1, klaudin ve afadin gibi proteinlerle etkileşime girerek hücre-hücre temasının olgunlaşmasını ve TJ'ler ile yapışma bağlantıları (Adherens Junction, AJ) gibi bağlantı komplekslerinin oluşumunu düzenler (Hartmann ve ark., 2020).

Bugüne kadar JAM-A (-1), -B (-2), -C (-3) ve -L (-4) olarak adlandırılan dört JAM molekülü tanımlanmıştır (Wang ve Liu, 2022). Genel olarak JAM, spermatogonia-spermatogonia, spermatogonia-Sertoli hücreleri ve Sertoli hücreleri-Sertoli hücreleri arasındaki homofilik hücre yapışmasına katılır. JAM-A prostat, seminal vezikül ve epididimisin her üç bölgesinde de bulunur. JAM-A hem Sertoli hem de bazı bazal germ hücrelerinde (GC), özellikle Sertoli hücreleri arası bağlantılarda ve kemirgenlerin epididimisi içindeki uzun spermatidlerin kuyruklarında bulunur; luminal sıvıdaki epididimozomlarda salgılanır ve in vitro olarak spermilere iletilir (Wu ve ark., 2017). Premayotik germ hücrelerinde eksprese edilen JAM-A, BTB boyunca germ hücresi göçünü kolaylaştırır ve daha sonra adluminal kompartmanda yerleşik çoğu GC'de kaybolur (Wang ve Liu, 2022). Sertoli hücresi sıkı bağlantı noktası in vitro olarak bozulduğunda, BTB ile ilişkili proteinler JAM-A hücre-hücre arayüzünden kaybolur (Yan ve ark., 2007). Memeli testisinde JAM-B, Sertoli hücreleri ile Sertoli ve germ hücreleri arasındaki apikal ektoplazmik özelleşmeler arasındaki BTB'de bulunur ve gelişmekte olan germ hücrelerinin kan-testis bariyerinden geçişini ve olgun spermatidlerin zamanında salınmasını teşvik eder. Özetle JAM-A ve JAM-B BTB'nin polaritesine katkıda bulunur (Wang ve Liu, 2022).

JAM-C germ hücre aktivitelerini modüle eden önemli bir proteindir. JAM-C, germ/Sertoli hücre temaslarına lokalize olur; akrozom oluşumuna ve germ hücre polaritesine, özellikle de yuvarlak spermatidlere katılır. İlginç bir şekilde, JAM-C fare testislerinde yerleşimi BTB yerine apikal ektoplazmik özelleşme (ES) ile sınırlıdır. JAM-C eksikliği olan erkekler yaklaşık %50 daha küçük testislere sahiptirler ve kısır durlar. Farklılaşmış uzun spermatidlerden yoksundurlar ve olgun

sperm hücreleri üretmezler. Dolayısıyla JAM-C spermatidlerin gelişiminin birincil düzenleyicisidir (Pellegrini ve ark., 2011). Sertoli hücreleri içinde JAM-C, hem yuvarlak hem de uzun spermatidlerin polaritesini etkilemek için JAM-B ile etkileşime girer (Rehder ve ark., 2006). Çalışmalar ayrıca JAM-C'nin inaktivasyonunun erkek germ hücre gelişimini ve proliferasyonunu bloke ederek fertilitiyi önemli ölçüde engellediğini göstermiştir (Ebnet, 2017).

Diğer bir üye olan JAM-L (JAM-4) proteini gonositler, spermatogonyumlar ve Sertoli hücrelerinde lokalizedir ve BTB oluşumu sırasında testiste bir sıkı bağlantı proteini yerine bir hücre yapışma molekülü olarak işlev görür (Nagamatsu ve ark., 2006).

Tutundurucu Bağlantılar

Tutundurucu veya bağlayıcı bağlantılar Sertoli hücreleri, Sertoli ve germ hücreleri ve germ hücreleri arasında bulunan bağlantılardır. Seminifer epitelde testise özgü iki tür tutundurucu veya bağlayıcı bağlantı bulunur: Bunlar; Desmozom-benzeri bağlantılar ve Ektoplazmik özelleşmeler (ES)'dir (Kopera ve ark., 2010).

1. Desmozom-benzeri bağlantılar

Desmozomlar, hücre-hücre temasına ve yapışmasına aracılık eden özelleşmiş ve oldukça düzenli membran alanlarıdır. Desmozomlar hem hücre-hücre adezyonuna hem de hücre iskeleti bağlantılarına aracılık ederek, hücreleri dokulara mekanik olarak entegre eder ve böylece mekanik strese direnme işlevi görür. Son çalışmalarda, hücre yapışması dışında hücre proliferasyonu, farklılaşma, göç ve morfogenez ile ilgili sinyal yollarını organize etmede ve düzenlemede önemli işlev gördüğü ifade edilmektedir (Kopera ve ark., 2010).

Desmozomal proteinler üç ana gen ailesi tarafından kodlanır: Desmozomal kaderinler, Armadillo (Arm) ailesi proteinleri ve plakin ailesi (Kowalczyk ve Green, 2013).

i. Desmozomal kaderinler: Desmogleinler ve desmokoliner olarak adlandırılan iki alt tipten oluşan desmozomal kaderinler, kalsiyuma bağlı hücre-hücre adezyonuna aracılık eden kaderin süper ailesinin bir alt ailesidirler. İnsanlarda dört gen desmogleinleri (Dsg1-4) ve üç gen desmokolinerleri (Dsc1-3) kodlar. Desmozomal kaderin genleri dokuya ve farklılaşmaya özgü bir şekilde ifade edilirler (Saito ve ark., 2012).

ii. Armadillo (Arm) ailesi proteinleri: Armadillo (Arm) ailesi proteinleri, doku bütünlüğü ve hücre sinyalizasyonunda önemli roller oynayan ve kaderinleri çeşitli hücre iskeleti filamentlerine bağlamada ve bağlantı düzeneğini düzenlemede görevli olan proteinlerdir. Armadillo ailesi, armadillo alanı olarak adlandırılan 42 amino asitlik tekrarlanan bir motifin varlığıyla

tanımlanır. Desmozomlarda iki tip armadillo proteini bulunur. Plakoglobin ve β -katenin bu gen ailesinin orijinal kurucu üyeleri arasındadır ve her iki protein de doğrudan kaderinlerin sitoplazmik alanına (domain) bağlanır (Kowalczyk ve ark., 1999; Hatzfeld, 2007). Desmozomlar ayrıca Armadillo alt ailesinin üyeleri olan p120 catenin (p120ctn), p0071 (plakofilin-4 olarak da bilinir), Velo-kardiyo-fasiyal sendromda silinmiş Armadillo tekrar proteini (Armadillo repeat protein deleted in velo-cardio-facial syndrome, ARVCF), delta-katenin (δ -catenin) ve plakofilinler 1-3'ü (PKP1-3) içerir (Hatzfeld, 2007).

iii. Plakin ailesi: Desmozomal proteinleri kodlayan üçüncü büyük gen ailesi plakin ailesidir (Sonnenberg ve Liem, 2007). Üyeleri arasında bulunan desmoplakin, intermediyer (ara) filamentleri desmozomal plağa bağlayan zorunlu bir desmozomal proteindir. Desmoplakin'in amino-terminusu, doğrudan plakoglobin ve plakofilinlere bağlanır (Kowalczyk ve ark., 1999).

Testiste desmozomlar ilk olarak Lonnie Russell (1977) tarafından incelenmiş ve bu ara filament bazlı yapılar 'desmozom benzeri' (alternatif olarak 'desmozom-gap' olarak da ifade edilmiştir) olarak tanımlanmıştır. Çünkü ultrastrüktürel olarak deride veya kalpte bulunan sıkı ve Ca^{2+} -bağımsız (yani aşırı yapışkan-hiper-adeziv) desmozomlara benzemedikleri görülmüştür. Bugün, BTB'deki Sertoli hücreleri arasında ve Sertoli hücreleri ile gelişimin 8. basamağında uzayan spermatidlere kadar (ancak bunlar dahil değil) tüm germ hücreleri arasında bulunan desmozom benzeri bağlantıların, diğer organlardaki desmozomların yapısına katılan proteinlerin çoğunu (örn. desmogleinler, desmokolinerler, plakoglobin, plakofilinler ve desmoplakinler) içerdiği bilinmektedir (Lie ve ark., 2010). Testiste, BTB'nin yanısıra, Sertoli hücreleri -spermatid veya Sertoli hücreleri-spermatosit/spermatogonyum arayüzünde desmozomlar bulunabilir (Cheng ve ark., 2011). Bununla birlikte Domke ve ark. (2014) insan, sığır, domuz, sıçan ve farenin seminifer epitelinin desmozom veya "desmozom benzeri" bağlantılar ya da desmozoma özgü kaderinlerden, yani desmoglein ve desmokolinerlerden herhangi birine veya desmozoma özgü sitoplazmik plak proteinlerinden, yani desmoplakin veya plakofilin (Pkp) 1-3'ten birine de sahip olmadıklarını göstermişlerdir. Dolayısıyla BTB'de desmozom benzeri proteinlerin varlığı hala tartışmalı bir konudur.

2. Adherens junction (Ektoplazmik özelleşmeler)

Ektoplazmik özelleşmeler (ES), testiste iki farklı bölgede bulunan aktin bazlı bağlantı noktalarıdır. İlk yerleşim yeri, seminifer epitelde postmayotik spermatidler ile Sertoli hücreleri arasındadır. Uzayan ve uzamış spermatidlerin başının tamamını çevreleyen bu ES tipi apikal ES olarak da bilinir (Mruk ve ark., 2008). Apikal ES, Sertoli hücreleri ile kemiricilerde spermatidler arasında bulunan, hücre-hücre aktin bazlı testi-

se özgü atipik adherens bağlantı noktası olarak tanımlanır. Apikal ES, ES'nin seminifer epiteldeki tek ve en güçlü bağlayıcı bağlantı noktasıdır. Çünkü daha erken evredeki spermatidler ile Sertoli hücreleri arasında bulunan desmozom-gap bağlantılarının tümü kaybolurken (Wolski ve ark., 2005), apikal ES seminifer epitel döngüsü boyunca mevcuttur ve ilk olarak Sertoli hücreleri ve yuvarlak spermatidler arasında sıçan testisinde VII. evrenin sonlarında ve VIII. evrenin başlarında görülür. Seminifer epitelde varlığını sürdürür ve tübülolbulbar kompleksin (TBC) ortaya çıkmasından önce farede 19. aşamaya kadar olan spermatidlerle ilişki kurar (Vogl ve ark., 2000). TBC'ler sperm salınımından (spermiyasyon) hemen ortaya çıkan ve Sertoli hücreleri ile uzamış geç spermatidler arasında bulunan özel yapılardır. TBC'ler uzamış geç spermatidlerin sitoplazmik evaginasyonlarıdır. Bunlar Sertoli hücre sitoplazmasına nüfuz ederler ve hem tübüler hem de ampul benzeri kısımlardan oluşurlar. Tübüler kısımlar aktin filamanları ile, ampul kısımları ise granülsüz endoplazmik retikulum kesecikleri ile kuşatılmıştır. Bu TBC'lerin çevresinde çok sayıda çift membranlı vezikül mevcuttur. Sıçanda seminifer epitel döngüsünün VII. evresinin başında, spermatidler Sertoli hücrelerinin derin girintilerinden seminifer epitel lümenine doğru hareket ederken çok sayıda oluşurlar. TBC'ler sıçan, keseli sıçan, tarla faresi, kobay, fare, hamster, tavşan, köpek, koç, maymun ve insan olmak üzere on memeli türünün testislerinde incelenmiş olup ve spermatid başına 24 kadar TBC'nin oluştuğu tespit edilmiştir (Upadhyay ve ark., 2012).

ES'nin ikinci tipinin yerleşim yeri BTB'deki komşu Sertoli hücreleri arasında olup bu bağlantı bazal ES olarak bilinir (Cheng ve Mruk, 2010). Tek başına var olan apikal ES'nin aksine, bazal ES sıkı bağlantılar, desmozomlar ve gap junction'lar ile bir aradadır ve BTB'nin immünolojik bariyer işlevine katkıda bulunur (Mruk ve ark., 2008).

Ultrastrüktürel olarak ES'ler, Sertoli hücrelerinin endoplazmik retikulum sisternaları ile plazma membranı arasına yerleşmiş aktin filamanı demetlerinin varlığıyla karakterizedir (Vogl ve ark., 2000). Bazal ES'de endoplazmik retikulum sisternaları ile plazma membranı arasına sıkışmış aktin filament demetleri komşu her iki Sertoli hücrelerinde de bulunur, yani bazal ES iki dizi aktin filament demetinden oluşur. Apikal ES, Sertoli hücreleri plazma membranı ile endoplazmik retikulum sisternaları arasına sıkışmış, uzayan/uzamış spermatidlerin neredeyse tüm baş bölgesini çevreleyen, altıgen olarak paketlenmiş aktin filament demetlerinden oluşur (Wong ve ark., 2008). Bitişik uzayan/uzamış spermatidlerdeki integral membran bağlantı molekülleri hakkında çok az şey bilinmektedir. Bununla birlikte, son çalışmalar nektin-2, nektin-3, N-cadherin, laminin γ 3, zyxin ve diğerlerinin apikal ES bölgesinde bulunduğunu ve uzayan/uzamış spermatidlerle ilişkili olduğunu gösterilmiştir (Lee ve ark.,

2003; Siu ve Cheng, 2004). Bu ultrastrüktürel özellikler ES'ye ve testise özgüdür; yani, memeli vücudundaki herhangi bir organdaki başka bir hücre tipinde tespit edilemezler. Her iki ES'nin birincil işlevi germ hücresi hareketini kolaylaştırmaktır; buna ek olarak germ hücrelerini, özellikle de spermatidleri spermiyasyon gerçekleşene kadar epitelde tutma işlevi de bulunmaktadır (Vogl ve ark., 2000; Toyama ve ark., 2003).

İlginç bir şekilde, ES aynı zamanda TJ'lar, gap junction'lar, desmozomlar, hemidesmozomlar ve diğer epiteldeki fokal bağlantılarda bulunan proteinlerden oluşur, bu da ES'yi hibrit bir kavşak haline getirir (Yan ve ark., 2007; Wong ve ark., 2008). Ayrıca, apikal ve bazal ES ultrastrüktürel olarak aynı olsa da apikal ES'de bulunan proteinlerden β 1-integrin ve laminin α 3, β 3, γ 3 bazal ES'de tespit edilmezken, bazı proteinler (örneğin N-cadherin) her iki bölgede de bulunur (Johnson ve Boekelheide, 2002; Lee ve ark., 2003; Siu ve Cheng, 2004; Yan ve Cheng, 2006).

Gelişen germ hücreleri, memelilerin testislerindeki seminifer epitel döngüsü boyunca, desmozom benzeri bağlantılar ve apikal ektoplazmik özelleşmeler (ES) yoluyla Sertoli hücrelerine yapışır ve bu hücreler arasındaki yapışma herhangi bir şekilde tehlikeye girerse, germ hücreleri seminifer epitelde erken ayrılır ve kısırılık meydana gelebilir. Apikal ES'nin, Sertoli hücreleri ile uzamış spermatidler arasında bulunan ve spermatid hareketinde (yani spermiyasyon) önemli rol oynadığı öne sürülen benzersiz bir bağlantı noktası olduğu ifade edilmiştir. Bazal ES'nin de BTB bütünlüğüne katkıda bulunduğuna inanılsa da BTB'nin aynı zamanda TJ'lerden ve desmozom benzeri bağlantılardan oluşmasından dolayı bunu nasıl başardığı henüz bilinmemektedir (Kopera ve ark., 2010).

Ektoplazma dinamikleri arasında yer alan protein komplekslerinin hücre yapışmasını kolaylaştırmaya ek olarak, hücrelerin endotel boyunca göçünde de işlev gördüğü ifade edilmektedir. Bu protein kompleksleri şunlardır:

a) Multiprotein kompleksleri: Bugüne kadar ES'de kaderin/katenin, nektin/afadin/ponsin, integrin/laminin ve JAM-PAR/CAR multi-protein kompleksleri olmak üzere dört çoklu protein kompleksi bulunmuştur. Kaderin/katenin ve nektin/afadin komplekslerinin her ikisi de apikal ve bazal ES bölgelerinde tespit edilirken, integrin/laminin kompleksi çoğunlukla apikal ES bölgesiyle sınırlıdır (Cheng ve Mruk, 2002; Takai ve Nakanishi, 2003).

(i) Kaderin-katenin multi-protein kompleksi: Bu kompleks, epitel ve endotel hücrelerinde en çok incelenen aktin bazlı yapışma birimidir. Testis'te bir dizi farklı kaderin tanımlanmıştır ve bu durum geçmişte tartışmalı bir konu olmasına rağmen, N-Cadherin'in apikal ES'de bulunduğu artık iyi bilinmektedir (Kopera ve

ark., 2010).

(ii) İntegrin-laminin multi-protein kompleksi: İntegrinler, lamininler gibi ligandlara bağlanarak hücre-hücre ve hücre-matriks yapışmasına aracılık eden ve transmembran heterodimerlerinden oluşan hücre yüzeyi reseptörleridir. Yapışma rolüne ek olarak integrinler hücrelerle dış ortam arasında önemli sinyal dönüştürücüleridir. Memeli testisin seminifer epitelindeki integrin/laminin kompleksi, Sertoli hücresi-uzamış spermatid arayüzündeki apikal ES'de ve Sertoli hücre-hücre membranındaki hemidesmozom arayüzünde olmak üzere iki yapışma bölgesine yerleşir. Son çalışmalar, integrinlerin ve lamininlerin apikal ES, hemidesmozom ve BTB arasındaki bağlantıya aracılık ettiğini ve bariyerin yeniden yapılandırmasını kolaylaştırmak için lokal bir otokrin eksen oluşturduğunu göstermektedir (Lie ve ark., 2013).

(iii) Nektin-afadin multi-protein kompleksi: Sertoli hücresi-spermatid bağlantılarının nektin-2 ve afadinden oluşan nektin-afadin sistemine bağlı olduğu bildirilmektedir (Takai ve Nakanishi, 2003).

(iv) JAM-PAR/CAR multi-protein kompleksi: TJ'ların varlığı seminifer epiteldeki BTB ile sınırlı olmasına karşılık, bağlantı adezyon molekülü (JAM), Coxsackie virus ve adenovirüs reseptörü (CAR) ve PAR proteinlerini içeren TJ proteinlerinin apikal ES'de lokalize olduğu ifade edilmiştir. JAM-A ve -B, BTB'deki Sertoli hücrelerinde ve yuvarlak ve uzun spermatidlerde bulunurken, JAM-C sadece apikal ES'de Sertoli hücresi-spermatid yapışması ve germ hücre konumlandırma ve polarizasyonda işlev gördüğü belirtilmiştir. CAR ise hücre yapışmasında rol oynar (Kopera ve ark., 2010).

b) Hemidesmozom: Hemidesmozom, Sertoli hücresi ile bazal membran arasındaki arayüzde bulunan intermediyer filaman bazlı bir hücre-matriks bağlanma kavşağıdır. 2008 yılında laminin $\alpha 2$ ve $\beta 1$ -integrini hemidesmozomun iki bileşen proteinini olarak tanımlayan bir çalışma dışında (Yan ve ark., 2008), testisteki moleküler bileşimi şimdiye kadar araştırılmamıştır. Diğer epitel dokularındaki TJ'lar hemidesmozomdan en uzakta bulunurken, seminifer epitelde ise BTB TJ'ları hemidesmozomun yakınında yer alır; bu da TJ'ların, bazal ES'nin, desmozomların ve GJ'ların BTB bütünlüğünü korumak için hemidesmozomlarla etkileşim halinde olabileceğini göstermektedir. Ayrıca son çalışmalar hemidesmozomdaki $\beta 1$ -integrin işlevinin bozulmasının TJ bariyer işlevini etkileyeceğini göstermekte ve hemidesmozom ile BTB'nin bağlantı birimleri arasında fizyolojik bir bağlantı olduğunu ortaya koymaktadır (Cheng ve ark., 2011).

3. Geçit bağlantıları (Gap junction, GJ)

Geçit bağlantıları (Gap junction, GJ) iki hücrenin sitoplazmasını doğrudan birbirine bağlayarak çeşitli metabolitlerin, ikinci habercilerin, iyonların, 1 kDa'dan

küçük diğer moleküllerin ve elektriksel uyarıların difüzyonuna izin veren hücre-hücre kanallarıdır (Mruk ve Cheng, 2015). GJ, her biri "konneksin" adı verilen 6 adet proteinin bir por etrafında dizilmesiyle oluşan ve "konnekson" olarak adlandırılan iki yarım kanaldan oluşur (Kumar ve Gilula, 1996). İnsanlarda ve kemirgenlerde konneksin 43 (Cx43), konneksin 33 (Cx33) ve konneksin 26 (Cx26) gibi en az 20 konneksin proteini bulunur (Cheng ve ark., 2011). BTB'de GJ'lar komşu iki Sertoli hücresi arasındaki ve Sertoli hücreleri ile germ hücreleri arasındaki hücreler arası iletişimi düzenler ve spermatogenezde hayati işlevler görür (Gerber ve ark., 2016). CX43 testiste belirlenen birkaç konneksin türü arasında en bol eksprese edilen konneksin proteindir (Mital ve ark., 2011). Cx43 ile desmozom proteini plakofilin-2'nin, Sertoli-Sertoli hücre arayüzünde TJ ile ilişkili proteinlerin dağılımını düzenleyerek kan testis bariyeri bütünlüğünü düzenlemek için sinerjistik olarak çalıştığı ifade edilmiştir (Li ve ark., 2009).

Erkek İnfertilitesinde Oksidatif Stresin Kan-Testis Bariyeri Üzerine Etkisi

Vücutta antioksidanlar ve reaktif oksijen türleri (ROS) arasındaki dengesizliğin oksidatif strese neden olduğu ve ROS'lerinin erkek infertilitesinde %30-80 oranında rol oynadığı bildirilmiştir (Takeshima ve ark., 2020). Testislerin daha fazla oksijene ihtiyaç duyan hassas bir organ olduğu için oksidatif strese daha yatkın olduğu, bununla birlikte testisin sahip olduğu antioksidan enzim sistemi sayesinde normal spermatogenez ve steroidogenez sürdürülebildiği tespit edilmiştir (Mruk ve ark., 2002; Gram ve ark., 2022). Son yıllarda yapılan çalışmalar çevredeki toksik maddeler, kemoterapötik ilaçlar, ısı ve çeşitli hastalıkların aşırı ROS oluşumuna neden olduğunu (Agarwal ve ark., 2003) ve ROS'lerinin de Sertoli hücre yapısını ve işlevini bozarak BTB'nin bütünlüğünün bozulmasına neden olduğunu ortaya koymuştur (Yi ve ark., 2018; Wu ve ark., 2019). ROS'un Sertoli hücrelerinde yaygın apoptoza, ZO-1, β -katenin ve Cx43 ekspresyonunda belirgin azalmaya (Yi ve ark., 2018; Zhang ve ark., 2020) ve Sertoli hücrelerinin işlevini bozarak spermatogoniyal kök hücrelerin korunmasında başarısızlığa neden olduğu bildirilmiştir (Zhang ve ark., 2020). Bu sonuçlara dayanarak oksidatif stresi inhibe ettiği bilinen çeşitli antioksidan ilaçların (örneğin askorbik asit, metformin, fluvastatin gibi) kullanılmasının BTB hasarının hem önlenmesi hem de hafifletilmesi için potansiyel bir tedavi yöntemi olabileceği öne sürülmüştür (Gurel ve ark., 2019; Ye ve ark., 2019).

Sonuç

Bu derlemede, kan-testis bariyerindeki bağlantı komplekslerinin bileşenleri ile bunların testis fonksiyonu ve spermatogenez için fizyolojik önemi konusundaki son gelişmelerden bazıları özetlenmiştir. Son yirmi yılda yapılan Sertoli-germ bağlantılarını araştı-

ran çalışmalar büyük ölçüde Sertoli veya germ hücrelerinin salgılama işlevi ve aktivitesine odaklanmıştır. Bu çalışmalarla seminifer tübüldeki bu hücrelerin salgılama aktivitelerindeki müteakip değişikliklerin başlangıçta hücre bağlantıları düzeyinde gerçekleştiği ortaya konmuştur. Yine de testisin seminifer tübülündeki TJ'ların ve ES gibi AJ'ların biyokimyasal ve moleküler yapısı ve mimarisi henüz tam anlamıyla açıklanamamıştır. Son güncel çalışmalarda BTB'nin spermatogenez sırasında, gelişen preleptoten ve leptoten spermatositlerin adluminal bölgeye geçişi ve gelişmesini tamamlamış spermatidlerin spermiyasyon sırasında tübül lümene salınabilmesi için açılıp kapandığı ve bu açılıp kapanmasının bir dizi sinyal yolağı ve molekül tarafından düzenlendiği ileri sürülmüştür (Zhou ve Wang, 2022). Bu yönüyle kan testis bariyerinin fonksiyonunu düzenleyen mekanizmaları açıklayacak ileri moleküler çalışmalara gerek vardır.

Kaynaklar

- Agarwal A, Saleh RA, Bedaiwy MA. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertil Steril* 2003; 79(4): 829-43.
- Amasheh S, Milatz S, Krug SM, Markov AG, Günzel D, Amasheh M, Fromm M. Tight junction proteins as channel formers and barrier builders. *Ann N Y Acad Sci* 2009; 1165: 211-9.
- Cheng CY, Silvestrini B, Grima J, Mo M, Zhu L, Johansson E, Leone M, Palmery M, Mruk D. Two new male contraceptives exert their effects by depleting germ cells prematurely from the testis. *Biol Reprod* 2001; 65(2): 449-61.
- Cheng CY, Mruk DD. Cell junction dynamics in the testis: Sertoli-germ cell interactions and male contraceptive development. *Physiol Rev* 2002; 82(4): 825-74.
- 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(5): 245-63.
- Cheng CY, Mruk DD. A local autocrine axis in the testes that regulates spermatogenesis. *Nat Rev Endocrinol* 2010; 6(7): 380-95.
- Cheng CY, 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 junction, hemidesmosome and polarity proteins: An unexpected turn of events. *Spermatogenesis* 2011; 1(2): 105-15.
- Chung NP, Cheng CY. Is cadmium chloride-induced inter-Sertoli tight junction permeability barrier disruption a suitable in vitro model to study the events of junction disassembly during spermatogenesis in the rat testis? *Endocrinology* 2001; 142(5): 1878-88.
- Domke LM, Rickelt S, Dörfinger Y, Kuhn C, Winter-Simanowski S, Zimbelmann R, Rosin-Arbesfeld R, Heid H, Franke WW. The cell-cell junctions of mammalian testes: I. The adhering junctions of the seminiferous epithelium represent special differentiation structures. *Cell Tissue Res* 2014; 357(3): 645-65.
- Ebnet K. Junctional adhesion molecules (JAMs): Cell adhesion receptors with pleiotropic functions in cell Physiology and Development. *Physiol Rev* 2017; 97(4): 1529-54.
- Fiorini C, Tilloy-Ellul A, Chevalier S, Charuel C, Pointis G. Sertoli cell junctional proteins as early targets for different classes of reproductive toxicants. *Reprod Toxicol* 2004; 18(3): 413-21.
- Garrido-Urbani S, Bradfield PF, Imhof BA. Tight junction dynamics: The role of junctional adhesion molecules (JAMs). *Cell Tissue Res* 2014; 355(3): 701-15.
- Gerber J, Heinrich J, Brehm R. Blood-testis barrier and Sertoli cell function: Lessons from SCCx43KO mice. *Reproduction* 2016; 151(2): R15-27.
- González-Mariscal L, Betanzos A, Avila-Flores A. MAGUK proteins: Structure and role in the tight junction. *Semin Cell Dev Biol* 2000; 11(4): 315-24.
- Gram DY, Sexton B, Liman N, Müller L, Abay M, Gram A, Balogh O. Testicular expression of antioxidant enzymes and changes in response to a slow-release Deslorelin implant (Suprelorin® 4,7 mg) in the Dog. *Animals*, 2022; 12(18): 2343.
- Gurel C, Kuscu GC, Buhur A, Dagdeviren M, Oltulu F, Karabay Yavasoglu NU, Yavasoglu A. Fluvas-tatin attenuates doxorubicin-induced testicular toxicity in rats by reducing oxidative stress and regulating the blood-testis barrier via mTOR signaling pathway. *Hum Exp Toxicol* 2019; 38(12): 1329-43.
- Günzel D, Yu AS. Claudins and the modulation of tight junction permeability. *Physiol Rev* 2013; 93(2): 525-69.
- Hartmann C, Schwietzer YA, Otani T, Furuse M, Ebnet K. Physiological functions of junctional adhesion molecules (JAMs) in tight junctions. *Biochim Biophys Acta Biomembr* 2020; 1862(9): 183299.
- Hatzfeld M. Plakophilins: Multifunctional proteins or just regulators of desmosomal adhesion? *Biochim*

- Biophys Acta 2007; 1773(1): 69-77.
- Hess RA, Renato de Franca L. Spermatogenesis and cycle of the seminiferous epithelium. *Adv Exp Med Biol* 2008; 636: 1-15.
- Johnson L. Efficiency of spermatogenesis. *Micros Res Techn* 1995; 32(5): 385-422.
- Johnson KJ, Boekelheide K. Dynamic testicular adhesion junctions are immunologically unique. II. Localization of classic cadherins in rat testis. *Biol Reprod* 2002; 66(4): 992-1000.
- Kaur G, Mital P, Dufour JM. Testisimmune privilege-assumptions versus facts. *Anim Reprod* 2013; 10(1): 3-15.
- Kopera IA, Bilinska B, Cheng CY, Mruk DD. Sertoli-germ cell junctions in the testis: a review of recent data. *Philosophical transactions of the royal society B: Biol Sci* 2010; 365(1546): 1593-605.
- Kowalczyk AP, Green KJ. Structure, function, and regulation of desmosomes. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2013; 116: 95-118.
- Kowalczyk AP, Hatzfeld M, Bornslaeger EA, Kopp DS, Borgwardt JE, Corcoran CM, Green KJ. The head domain of plakophilin-1 binds to desmoplakin and enhances its recruitment to desmosomes: implications for cutaneous disease. *J Biol Chem* 1999; 274(26): 18145-8.
- Kumar NM, Gilula NB. The gap junction communication channel. *Cell* 1996; 84(3): 381-8.
- Lau AS, Mruk DD. Rab8B GTPase and junction dynamics in the testis. *Endocrinol* 2003; 144(4): 1549-63.
- 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(2): 489-508.
- Li MW, Mruk DD, Lee WM, Cheng CY. Cytokines and junction restructuring events during spermatogenesis in the testis: An emerging concept of regulation. *Cytokine Growth Factor Rev* 2009; 20(4): 329-38.
- Li XY, Zhang Y, Wang XX, Jin C, Wang YQ, Sun TC, Liu YX. (2018). Regulation of blood-testis barrier assembly in vivo by germ cells. *FASEB J* 2018; 32(3): 1653.
- Lie PP, Cheng CY, Mruk DD. The desmoglein-2/desmocollin-2/Src kinase protein complex regulates blood-testis barrier dynamics. *Int J Biochem Cell Biol* 2010; 42: 975-86.
- Lie PP, Cheng CY, Mruk DD. Signalling pathways regulating the blood-testis barrier. *Int J Biochem Cell Biol* 2013; 45(3): 621-5.
- Liman N, Alan E, Beyaz F, Gürbulak K. Endothelial and inducible nitric oxide synthase (NOS) immunoreactivity and NOS-associated NADPH-diaphorase histochemistry in the domestic cat (*Felis catus*) testis. *Theriogenology* 2013; 80(9):1017-32.
- Liman N, Ateş N. Abundances and localizations of Claudin-1 and Claudin-5 in the domestic cat (*Felis catus*) ovary during the estrous cycle. *Anim Reprod Sci* 2020; 212: 106247.
- Liman N. The abundance and localization of claudin-1 and -5 in the adult tomcats (*Felis catus*) testis, tubules rectus, rete testis, efferent ductules, and epididymis. *Anat Rec (Hoboken)* 2023; 1-17.
- Lui WY, Mruk D, Lee WM, Cheng CY. Sertoli cell tight junction dynamics: Their regulation during spermatogenesis. *Biol Reprod* 2003; 68(4): 1087-97.
- McMillan M, Andronicos N, Davey R, Stockwell S, Hinch G, Schmoelzl S. Claudin-8 expression in Sertoli cells and putative spermatogonial stem cells in the bovine testis. *Reprod Fertil Dev* 2014; 26(5): 633-44.
- Mazaud-Guittot S, Meugnier E, Pesenti S, Wu X, Vidal H, Gow A, 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(1): 202-13.
- Mineta K, Yamamoto Y, Yamazaki Y, Tanaka H, Tada Y, Saito K, Tsukita S. Predicted expansion of the claudin multigene family. *FEBS Lett* 2011; 585(4): 606-12.
- Mital P, Hinton BT, Dufour JM. The blood-testis and blood-epididymis barriers are more than just their tight junctions. *Biol Reprod* 2011; 84(5): 851-8.
- Mitic LL, Van Itallie CM, Anderson JM. Molecular physiology and pathophysiology of tight junctions I. Tight junction structure and function: Lessons from mutant animals and proteins. *Am J Physiol Gastrointest* 2000; 279(2): G250-4.
- Mruk DD, Silvestrini B, Mo MY, Cheng CY. Antioxidant superoxide dismutase-a review: Its function, regulation in the testis, and role in male fertility. *Contraception* 2002; 65(4): 305-11.
- 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.

- Mruk DD, Silvestrini B, Cheng CY. Anchoring junctions as drug targets: Role in contraceptive development. *Pharmacol Rev* 2008; 60(2): 146-80.
- Mruk DD, Cheng CY. The mammalian blood-testis barrier: Its biology and regulation. *Endocr Rev* 2015; 36(5): 564-91.
- Nagamatsu G, Ohmura M, Mizukami T, Hamaguchi I, Hirabayashi S, Yoshida S, Ohbo K. A CTX family cell adhesion molecule, JAM4, is expressed in stem cell and progenitor cell populations of both male germ cell and hematopoietic cell lineages. *Mol Cell Biol* 2006; 26(22): 8498-506.
- Pellegrini M, Claps G, Orlova VV, Barrios F, Dolci S, Geremia R, Nussenzweig A. Targeted JAM-C deletion in germ cells by Spo11-controlled Cre recombinase. *J Cell Sci* 2011; 124(1): 91-9.
- Pörtner C, Rode K, Hollenbach J, Thiemeyer H, Beineke A, Günzel-Apel AR, Brehm R. Expression of claudin-11 in canine prepubertal testes, and in canine adult testes showing normal spermatogenesis, impaired spermatogenesis, or testicular neoplasia. *Theriogenology* 2020; 148: 122-31.
- Rehder D, Iden S, Nasdala I, Wegener J, Brickwedde MK, Vestweber D, Ebnet K. Junctional adhesion molecule-a participates in the formation of apico-basal polarity through different domains. *Exp Cell Res* 2006; 312(17): 3389-403.
- Russell L. Desmosome-like junctions between Sertoli and germ cells in the rat testis. *American J Anat* 1977; 148(3): 301-12.
- Saito M, Tucker DK, Kohlhorst D, Niessen CM, Kowalczyk AP. Classical and desmosomal cadherins at a glance. *J Cell Sci* 2012; 125(11): 2547-52.
- Siu MK, Cheng CY. Interactions of proteases, protease inhibitors, and the β 1 integrin/laminin γ 3 protein complex in the regulation of ectoplasmic specialization dynamics in the rat testis. *Biol Reprod* 2004; 70(4): 945-64.
- Sonnenberg A and Liem RK. Plakins in development and disease. *Exp Cell Res* 2007; 313(10): 2189-203.
- Stammler A, Lüftner BU, Kliesch S, Weidner W, Bergmann M, Middendorff R, Konrad L. Highly conserved testicular localization of claudin-11 in normal and impaired spermatogenesis. *PLoS one* 2016; 11(8): e0160349.
- Stanton PG. Regulation of the blood-testis barrier. *Semin Cell Dev Biol* 2016; 59: 166-73.
- Takai Y, Nakanishi H. Nectin and afadin: Novel organizers of intercellular junctions. *J Cell Sci* 2003; 116(1): 17-27.
- Takeshima T, Usui K, Mori K, Asai T, Yasuda K, Kuroda S, Yumura Y. Oxidative stress and male infertility. *Reprod Med Biol* 2020; 20(1): 41-52.
- Toyama Y, Maekawa M, Yuasa S. Ectoplasmic specializations in the Sertoli cell: New vistas based on genetic defects and testicular toxicology. *Anat Sci Int* 2003; 78(1): 1-16.
- Tsukita S, Furuse M, Itoh M. Multifunctional strands in tight junctions. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001; 2(4): 285-93.
- Upadhyay RD, Kumar AV, Ganeshan M, Balasinar NH. Tubulobulbar complex: Cytoskeletal remodeling to release spermatozoa. *Reprod Biol Endocrinol* 2012; 10: 27.
- Vogl AW, 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.
- Wang J, Liu H. The roles of junctional adhesion molecules (JAMs) in cell migration. *Front Cell Dev Biol* 2022; 10: 843671.
- Wolski KM, Perrault C, Tran-Son-Tay R, Cameron DF. Strength measurement of the Sertoli-spermatid junctional complex. *J Androl* 2005; 26(3): 354-9.
- Wong EW, Mruk DD, Cheng CY. Biology and regulation of ectoplasmic specialization, an atypical adherens junction type, in the testis. *Biochim Biophys Acta (BBA)- Biomembr* 2008; 1778(3): 692-708.
- Wong CH, Cheng CY. The blood-testis barrier: its biology, regulation, and physiological role in spermatogenesis. *Curr Top Dev Biol* 2005; 71: 263-96.
- Wu KZ, Li K, Galileo DS, Martin-DeLeon, PA. Junctional adhesion molecule A: Expression in the murine epididymal tract and accessory organs and acquisition by maturing sperm. *Mol Human Reprod* 2017; 23(2): 132-40.
- Wu D, Huang CJ, Jiao XF, Ding ZM, Zhang SX, Miao YL, Huo LJ. Bisphenol AF compromises blood-testis barrier integrity and sperm quality in mice. *Chemosphere* 2019; 237: 124410.
- Xu J, Anuar F, Mohamed Ali S, Ng MY, Phua DC, Hunziker W. Zona occludens-2 is critical for blood-testis barrier integrity and male fertility. *Mol Biol Cell* 2009; 20(20): 4268-77.

- 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* 2008; 105(26): 8950-5.
- Yan HH, Mruk DD, Lee WM, Cheng CY. Ectoplasmic specialization: A friend or a foe of spermatogenesis? *BioEssays* 2007; 29(1): 36-48.
- Yan HH, Cheng CY. Laminin alpha3 forms a complex with beta3 and gamma3 chains that serves as the ligand for alpha6beta1-integrin at the apical ectoplasmic specialization in adult rat testes. *J Biol Chem* 2006; 281: 17286-303.
- Ye J, Luo D, Xu X, Sun M, Su X, Tian Z, Zhang M, Yu C, Guan Q. Metformin improves fertility in obese males by alleviating oxidative stress-induced blood-testis barrier damage. *Oxid Med Cell Longev* 2019; 2019: 9151067.
- Yi WEI, Xiang-Liang T, Yu Z, Bin L, Lian-Ju S, Chun-Lan L, Guang-Hui WEI. DEHP exposure destroys blood-testis barrier (BTB) integrity of immature testes through excessive ROS-mediated autophagy. *Genes Dis* 2018; 5(3): 263-74.
- Zhang DC, Chen R, Cai YH, Wang JJ, Yin C, Zou K. Hyperactive reactive oxygen species impair function of porcine Sertoli cells via suppression of surface protein ITGB1 and connexin-43. *Zool Res* 2020; 41(2): 203.
- Zhou Y, Wang Y. Action and interaction between retinoic acid signaling and blood–testis barrier function in the spermatogenesis cycle. *Cells* 2022; 11(3): 352.

