

Moléculas de interacción célula-célula y célula-MEC implicadas en foliculogénesis

Cell-cell and cell-ECM interaction molecules involved in folliculogenesis

P. Sánchez-Aparicio¹, R. Ramos², J. Cuadros¹ y E.R. Hernández¹

¹Clínica de Medicina de la Reproducción y Ginecología, FivMadrid, Madrid, Spain.

²Unidad de Genómica, Parque Científico, Universidad Autónoma, Madrid, Spain.

Resumen

La foliculogénesis es el proceso de crecimiento y maduración folicular que asegura la formación de gametos femeninos funcionales. Este proceso está sujeto a complejos mecanismos de regulación endocrina y paracrina. A su vez, los mecanismos de interacción celular desempeñan un papel clave puesto que el correcto diálogo intercelular controla la adecuada maduración ovocitaria. Esta revisión se centra en las moléculas más relevantes implicadas en los contactos célula-célula (Cx37, Cx43, Cad-N, Cad-E) así como célula-MEC ($\alpha 6\beta 1$, CD44) que gobiernan el proceso de la foliculogénesis. La comunicación entre el oocito y las células somáticas circundantes, en las que participan algunas de las moléculas citadas, constituye un proceso bi-direccional que asegura el normal desarrollo de la foliculogénesis. La foliculogénesis constituye, de forma inequívoca, un proceso de extraordinaria complejidad en la que las interacciones celulares desempeñan un papel esencial.

Palabras clave: Adhesión. Interacción celular. Foliculogénesis.

Summary

The folliculogenesis is the process of growing and follicular maturation which ensures the formation of functional female gametes. This process is subject to complex endocrine and paracrine regulation mechanisms. In turn, cell interaction mechanisms play a key role since proper maturation of oocytes is controlled by a correct intercellular dialogue. This review focused on the more relevant molecules involved in cell-cell (Cx37, Cx43, N-Cad, E-Cad) as well as cell-ECM ($\alpha 6\beta 1$, CD44) interactions, governing folliculogenesis. The communication between oocyte and the surrounding somatic cells, in which some of the above mentioned molecules are involved, is a bi-directional process which ensures the normal development of folliculogenesis. Folliculogenesis constitutes an extremely complex process in which cell interactions play an essential role.

Key words: Adhesion. Cell-cell interaction. Folliculogenesis.

Correspondencia: Dra. Paloma Sánchez-Aparicio
Pº de los Olmos, 13- Esc B- 6º D
28005 Madrid
aparicio@fivmadrid.es

Financiación: Este trabajo ha sido financiado en su totalidad de forma privada por la gerencia de la Clínica de Medicina de la Reproducción y Ginecología, FivMadrid.

ESTRUCTURA DINÁMICA DEL OVARIO

La producción de gametos funcionales es esencial para la propagación de todas las especies de mamíferos. El proceso de formación de gametos, denominado gametogénesis, tiene lugar en las gónadas masculinas (testículos) y femeninas (ovarios); y asegura la producción de células especializadas de forma única para transmitir el genoma a generaciones sucesivas. En este proceso, la división meiótica constituye un paso obligado que garantiza la formación de gametos haploides. Tras la fecundación del gameto femenino (oocito) por el masculino (espermatozoide) se origina un cigoto diploide que tras sucesivas divisiones mitóticas da paso a un embrión constituido por células totipotentes que proliferarán y terminarán por diferenciarse.

Los ovarios están situados en la cavidad peritoneal, a ambos lados del útero, y en ellos se produce el desarrollo y la maduración de los oocitos a partir de las células germinales. Los ovarios poseen una arquitectura tisular sencilla; en cada uno de ellos se distingue una región cortical y un estroma medular central. A nivel celular, no sólo están constituidos por células germinales sino por células epiteliales superficiales circundantes y células de estroma –células de tejido conectivo y productoras de hormonas– que aseguran por último la existencia de un entorno adecuado para el desarrollo ovocitario.

En la vida adulta, el ovario posee además una estructura dinámica donde los folículos ováricos están en continuo desarrollo. Los folículos se sitúan en la región cortical del ovario y están en evolución continua a partir del estadio primordial. Los folículos primordiales se forman, en su totalidad, durante el desarrollo prenatal y están constituidos por un oocito detenido en profase de la primera división meiótica y una capa de células somáticas planas circundantes denominadas células de la granulosa (1).

Los folículos primordiales están en estado de quiescencia durante un periodo de tiempo que varía de unos folículos a otros (2). La mayoría permanecen en este estado hasta que degeneran o se activan por señales específicas que les hacen entrar en fase de crecimiento, sufriendo entonces un dramático proceso de proliferación y diferenciación.

Sin embargo, los mecanismos concretos que arrestan o inician el crecimiento de los folículos primordiales en estado quiescente no se han establecido con exactitud, aunque el conocimiento de los genes que se expresan podría ayudar a entender los mecanismos de regulación de este proceso (3, 4). Dicho proceso

de crecimiento y maduración folicular se denomina foliculogénesis y culmina con la ovulación en cada ciclo ovárico, una vez alcanzada la edad reproductiva.

REGULACIÓN DE LA FUNCIÓN DEL OVARIO

El ovario no sólo está implicado en la producción de gametos, sino que además desempeña una función endocrina esencial mediante la producción de hormonas esteroideas. Esta producción hormonal está, a su vez, implicada en la propia generación de gametos por parte del ovario.

La síntesis hormonal del ovario está bajo el control del eje hipotálamo-hipofisario, con mecanismos estimuladores e inhibidores estrictamente regulados (regulación endocrina). Los ovarios disponen además de sistemas de regulación locales; esto es, células cuyas secreciones se autorregulan (regulación autocrina); y células cuyas secreciones se producen para intervenir en el control de células vecinas de la misma gónada (regulación paracrina).

La acción combinada de este complejo sistema de secreciones es lo que hace posible la correcta producción de gametos. Por tanto, las células de los ovarios responden al ambiente externo y a las señales de otras células; y lo hacen trasladando estas señales a diferentes partes de la célula, incluido el núcleo (5). Estas vías de transducción de señales acaban regulando el crecimiento, la supervivencia, la diferenciación, la migración y el metabolismo celular, y por tanto la transcripción de un número considerable de genes.

Durante el proceso de la foliculogénesis, los oocitos avanzan en su estado maduración y simultáneamente las células de la granulosa desarrollan capacidades esteroideogénicas específicas. Este proceso, a pesar de su simplicidad estructural, requiere complejos mecanismos de regulación. Se han descrito numerosos factores intra-ovario, esto es, miembros de distintas familias de factores de crecimiento que influyen en el crecimiento y la maduración folicular a través de la señalización paracrina (6-8).

Los estadios tardíos del desarrollo folicular son además dependientes de las hormonas hipofisarias FSH (hormona folículo estimulante) y LH (hormona luteinizante) (9). La hormona FSH es el mayor promotor de la maduración folicular aumentando la proliferación de las células de la granulosa y regulando la producción de la hormona estradiol (hormona esteroidea). Asimismo, la hormona LH juega un papel destacado en estadios avanzados del desarrollo folicular, estimulando la maduración del oocito, la ovula-

ción y el proceso de luteinización. A su vez, los factores de crecimiento producidos por los propios folículos son capaces de modular, amplificando o atenuando, la acción de la hormona FSH (10).

Por tanto, el proceso de la foliculogénesis está regulado por mecanismos intra-ovario y por mecanismos endocrinos que coordinan el proceso de crecimiento, proliferación y diferenciación celular (Páramo et al. 2002). En particular, dentro del propio folículo las interacciones paracrinas entre el oocito y las células de la granulosa circundantes son críticas para una correcta función celular y un adecuado desarrollo ovocitario (12). De especial relevancia en el crecimiento del oocito son los procesos mediados por la interacción *kit-kit ligand* (13), así como *Kit ligand* a través de la interacción con GDF9 y BMP15 (14-16).

MECANISMOS DE ADHESIÓN E INTERACCIÓN CELULAR

Los procesos de interacción celular no sólo resultan esenciales para el mantenimiento de la arquitectura tisular sino para el correcto desarrollo funcional de los órganos. Estos procesos, incluyendo la interacción célula-célula y célula-MEC (matriz extracelular), pueden tener lugar a través de estructuras de gran complejidad (*cell junction*) o a través de simples contactos celulares (*non cell junction*). Las primeras incluyen estructuras muy elaboradas del tipo de las *tight junctions*, *adherens junctions*, *gap junctions*, desmosomas, hemidesmosomas o contactos focales; mientras que las segundas son meros contactos célula-célula y célula-MEC de gran sencillez estructural y dinamismo (figura 1).

La mayor parte de los mecanismos de adhesión e interacción celular mencionados se dan en los ovarios, y en particular en los folículos. Entre ellas, las *gap junctions* (GJ) han sido descritas como elementos clave en el proceso de la foliculogénesis. Las GJ son agrupaciones de canales intercelulares que permiten una comunicación citoplasmática directa entre células adyacentes (17). Estos canales están, a su vez, formados por subunidades de proteínas denominadas conexinas (Cxs); y permiten el paso de pequeñas moléculas —iones, metabolitos, segundos mensajeros— haciendo posible de este modo la sincronización del comportamiento celular. Estas estructuras permiten la coordinación entre las propias células de la granulosa, y éstas con el oocito; de ahí la relevancia de las GJ en la maduración ovocitaria (18, 19).

Está ampliamente admitido que las interacciones

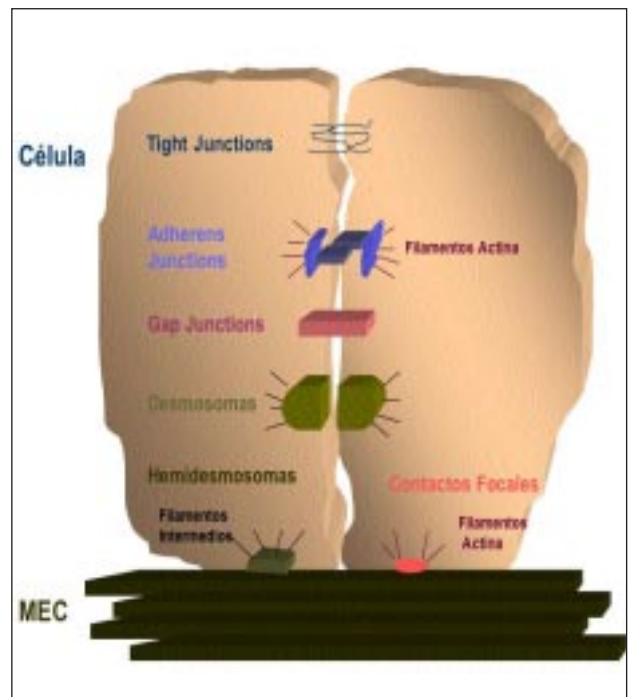


Figura 1

*Representación esquemática de los mecanismos de interacción célula-célula y célula-MEC. Las células pueden establecer procesos de adhesión con células contiguas o con las proteínas de la matriz extracelular (MEC). En ambos casos, la interacción puede tener lugar a través de estructuras complejas (*cell junctions*) o vía meros contactos celulares de escasa complejidad estructural (*non cell junctions*). Las estructuras tipo *cell junction* engloban: las *tight junctions*, las *adherens junctions*, las *gap junctions*, los *desmosomas*, los *hemidesmosomas* y los *contactos focales*. Las *tight junctions* son zonas especializadas de máxima proximidad celular entre células adyacentes que bloquea el movimiento de proteínas integrales de membrana y previene el paso de moléculas e iones a través del espacio entre las células. Las *adherens junctions* son uniones intercelulares firmes que anclan ambas membranas al citoesqueleto de actina. Las *gap junctions* son agrupaciones de canales intercelulares que mantienen una comunicación citoplasmática directa entre células adyacentes. Los *desmosomas* son puntos concretos de especialización de la membrana que mantienen la unión del citoesqueleto de queratina de una célula a la contigua permitiendo la cohesión celular mientras que los *hemidesmosomas* son estructuras complejas que mantienen unidas las células a la membrana basal. Los *contactos focales* son complejos moleculares que unen las células al sustrato subyacente de MEC. Por otra parte, los procesos de adhesión tipo *non cell junction* son meros contactos célula-célula y célula-MEC de gran sencillez y dinamismo en la que participan distintos miembros de las familias de moléculas de adhesión.*

celulares que se producen en el propio folículo ovárico desempeñan un papel importante para la correcta maduración ovocitaria. Así pues, el complejo diálogo intercelular resulta crucial para la regulación de este proceso. Además de las ya citadas Cxs, existen otras moléculas implicadas en estos procesos. Estas últimas pertenecen a distintas familias de moléculas de adhesión que incluyen la superfamilia de las Integrinas, la superfamilia de las Ig(s), la familia de las Selectinas, la familia de las Cadherinas, la familia de los Proteoglicanos y las Sialomucinas (Tabla 1); y están formando parte de las complejas estructuras mencionadas o de simples contactos celulares, según los casos (ver figura 1).

Tabla 1

Recopilación de las familias de moléculas implicadas en procesos de adhesión celular. Algunas de estas familias reciben la denominación de superfamilias. La mayoría de ellas incluyen un número considerable de moléculas que se engloban en dichas familias por su similitud estructural y funcional.

| |
|--|
| <p>Familias de moléculas de adhesión Superfamilias de las integrinas Superfamilia de las Igs Selectinas Cadherinas Proteoglicanos Sialomucinas</p> |
|--|

MOLÉCULAS DE INTERACCIÓN CÉLULA-CÉLULA IMPLICADAS EN FOLICULOGÉNESIS

De entre todas las moléculas implicadas en procesos de interacción célula-célula, existe una que desempeña un papel fundamental en el proceso de la foliculogénesis. Se trata de la conexina 43 (**Cx43**). Esta molécula es un miembro de la familia de las Cxs que se expresa mayoritariamente en el folículo ovárico y cuyo papel en foliculogénesis es clave. El estudio llevado a cabo con ratones *knockout* para Cx43 pone de manifiesto que la presencia de esta molécula resulta imprescindible para mantener la comunicación entre las células de la granulosa que rodean al oocito y sostener, por tanto, la proliferación de estas células y la maduración folicular. Esto es, en su ausencia los folículos se detienen en estadio preantral temprano y los oocitos resultan incompetentes (20, 21).

La Cx43 se expresa ya en folículos primordiales, su expresión se acumula coincidiendo con el crecimiento folicular, y está sujeta a modulación durante

el ciclo ovárico a través de las hormonas FSH y LH: la primera estimula la síntesis de Cx43 y la amplificación de canales intercelulares funcionales, mientras que la segunda, en una respuesta inmediata, interrumpe la comunicación célula-célula por la fosforilación y modificación conformacional de la molécula de Cx43 que conduce al cierre de los canales (22-24).

El efecto inmediato de la hormona LH es seguido por una respuesta tardía que conduce a la eliminación de la proteína por estimulación de la reducción de los niveles de ARNm; y a la desaparición final de las GJ (25). Algunos autores han propuesto además que el efecto de las hormonas FSH y LH está mediado por las hormonas esteroideas sintetizadas en el propio ovario, aunque se desconocen con exactitud los mecanismos implicados en este proceso.

Asimismo, se ha descrito la expresión de otros miembros de la familia de las Cx(s), entre ellos, Cx26, Cx30, Cx32, Cx37, Cx40 y Cx45 en tejido ovárico de diferentes especies de mamíferos (26-28). Aunque las células de la granulosa se comunican entre ellas a través de GJ de Cx43, éstas se comunican con el oocito a través de GJ de Cx37 (29).

El papel que desempeña la **Cx37** es imprescindible para el desarrollo folicular, la maduración del oocito y la ovulación; en ausencia de Cx37, los folículos no llegan a folículo antral y es causa de infertilidad en ratones (30). La comunicación celular a través de las GJ de Cx37 garantiza el paso de nutrientes y segundos mensajeros al interior del oocito desde las células de la granulosa y viceversa. Esta ampliamente admitido que la comunicación oocito-células de la granulosa es bidireccional, de manera que el oocito recibe información del exterior pero a su vez la información procedente del oocito condiciona la evolución de las células de la granulosa que lo rodean (12).

Por otra parte, existen otras moléculas implicadas en contactos célula-célula que desempeñan un papel relevante en la arquitectura y el desarrollo folicular. Este es el caso de las moléculas de adhesión dependientes de calcio, las cadherinas, que regulan la formación de las *cell junctions*, así como el establecimiento de la polaridad celular (31).

La implicación de las cadherinas en la remodelación tisular sugiere una implicación inequívoca en la reorganización celular del ovario en su desarrollo postnatal. Así pues, cambios de expresión de las cadherinas N y E (**Cad-N**, **Cad-E**) se han descrito coincidiendo con el crecimiento ovárico y la foliculogénesis (32), así como cambios en el perfil de distribución de otras cadherinas (33, 34).

La Cad-E está presente entre las células de la gra-

nulosa y forma parte de las estructuras tipo *cell junctions* que garantizan un estrecho contacto celular; y desempeña un papel importante en el estadio preantral tardío y antral (33). Además, el análisis de los ratones *knockout* para Cad-E demuestra el papel esencial que desempeña esta molécula en el desarrollo embrionario temprano puesto que ninguno de los embriones sin Cad-E llega a alcanzar el estadio de blastocisto (35).

Por último, otras moléculas implicadas en interacciones célula-célula, como por ejemplo **ICAM-1**, **VCAM-1** y **L-Selectina** (36) o incluso **LFA-1** (37) también se han detectado en oocitos aunque su función exacta se desconoce hasta el momento (Tabla 2).

Tabla 2

Recopilación de las moléculas de interacción célula-célula implicadas en foliculogénesis. La tabla recoge aquellas moléculas cuya expresión se ha descrito en ovario (ICAM-1, VCAM-1, LFA-1, L-Selectina, N-Cadherina), así como otras que desempeñan un papel importante en foliculogénesis como es el caso de la Cad-E o incluso un papel esencial para que este pueda tener lugar como así sucede con la Cx43 y la Cx37.

Superfamilia de las Igs (ICAM-1, VCAM-1, LFA-1)
Selectinas (L-Selectina)
Cadherinas (N-Cad, E-Cad)
Conexinas (Cx43, Cx37)

MOLÉCULAS DE INTERACCIÓN CÉLULA-MEC IMPLICADAS EN FOLICULOGÉNESIS

Las células, además de interactuar con otras células, establecen procesos de adhesión con las proteínas de la matriz extracelular (MEC). La MEC está formada por un conjunto de macromoléculas como laminina, fibronectina, perlecan, nidogen y distintos tipos de colágeno, que participan en procesos biológicos como migración celular, proliferación, crecimiento y desarrollo.

En el ovario, la MEC constituye la lámina folicular basal y está presente entre las células foliculares y en el fluido folicular, y juega un papel relevante en la función ovárica según demuestran los numerosos trabajos publicados en los últimos años (38-46)

Los folículos ováricos contienen diferentes tipos celulares y compartimentos separados que cambian a lo largo del proceso de crecimiento y desarrollo folicular. Aunque la cantidad relativa y la distribución de las proteínas de matriz dentro del folículo en desarrollo no se conoce con exactitud (45) parece claro que

son capaces de promover o inhibir procesos celulares como la proliferación, la diferenciación y la supervivencia celular que ocurren durante el desarrollo folicular.

Se ha descrito la variación de los componentes de la matriz extracelular en los distintos compartimentos foliculares así como la implicación diferencial de dichos componentes en los procesos de desarrollo folicular y atresia celular (41). Además, la composición de la matriz no sólo varía por los cambios en la síntesis de nuevos componentes sino por la degradación proteolítica de las proteínas debida a la acción de enzimas como las metaloproteasas, activadores del plasminógeno y proteínas ADAMTS (42, 44).

En la actualidad se ha demostrado de forma inequívoca el papel de la MEC en la regulación de los procesos celulares que tienen lugar en el ovario (46), así como la activación transcripcional de algunos genes de MEC en la transición de folículos primordiales a folículos primarios, o incluso la inhibición de un número elevado de otros genes de MEC en el mismo estadio de desarrollo evolutivo (4). Por tanto, la formación y el desarrollo, así como la ovulación y la regresión de los folículos se asocia a una considerable remodelación tisular, tal que los distintos constituyentes de la MEC —a través de sus receptores específicos de membrana— estarían íntimamente implicados en tales procesos (39-43).

Las moléculas que se expresan en la superficie celular y actúan como receptores de las proteínas de MEC pertenecen, a su vez, a distintas familias de moléculas de adhesión. La familia más numerosa y más ampliamente descrita es la superfamilia de las integrinas, cuyos miembros pueden formar parte de estructuras complejas o participar en meros contactos celulares.

Las integrinas facilitan la adhesión de las células a la MEC y activan además los mecanismos de señalización que regulan la reestructuración del citoesqueleto, el comportamiento celular y la síntesis de proteínas. Diversos trabajos han demostrado la presencia de distintas subunidades α y β de las integrinas en el ovario (47), en oocitos (48) y en células de la granulosa (38). En concreto, la subunidad $\alpha 6$ de las integrinas se ha descrito en células de la granulosa de folículos preovulatorios (49) y desempeña un papel clave en foliculogénesis (50-51). Asimismo, la integrina $\alpha 6 \beta 1$ asociada a CD9 está implicada en la regulación de la posterior luteinización de estas células a través de su ligando de MEC, la laminina (52).

A su vez, miembros de otras familias de moléculas de adhesión como CD44 (HCAM), receptor del ácido hialurónico y miembro de la familias de los

proteoglicanos, está implicada tanto en procesos de interacción célula-célula como célula-MEC, y también se expresa en oocitos (37) así como en complejos cúmulo-oocito (53, 54) (Tabla 3).

Tabla 3

Recopilación de las moléculas de interacción célula-MEC implicadas en foliculogénesis. Esta tabla incluye sólo dos moléculas cuyo papel es destacado en foliculogénesis; se trata de la integrina $\alpha\beta 1$ y del proteoglicano CD44. Ambas moléculas se expresan en la superficie celular y actúan como receptores de ligandos de matriz de MEC. La interacción receptor-ligando específica activa una cascada de señalización intracelular que conduce al efecto biológico final de dicha interacción.

Superfamilia de las integrinas ($\alpha\beta 1$)
Proteoglicanos (CD44)

CONCLUSIONES

La foliculogénesis es un proceso de una extraordinaria complejidad, que por tanto está sujeto a una estricta regulación y en el que las interacciones celulares desempeñan un papel fundamental. Numerosos estudios desarrollados en animales experimentales demuestran que el estrecho diálogo intercelular garantiza la correcta consecución de la maduración oocitaria. En este artículo se hace una revisión de las numerosas moléculas implicadas tanto en contactos célula-célula como célula-MEC, así como las diferentes estructuras de las que forman parte, que gobiernan por mecanismos diversos el proceso de la foliculogénesis. En conclusión, una sincronizada interacción bidireccional entre las células somáticas y las células germinales asegura el proceso normal de la foliculogénesis y su adecuada duración.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Lei L, Zhang H, Jin S, Wang F, Fu M, Wang H, Xia G.:** Stage-specific germ-somatic cell interaction directs the primordial folliculogenesis in mouse fetal ovaries. *J Cell Physiol*, 2006; 208(3): 640-7.
2. **Fortune JE, Cushman RA, Kito WS.:** The primordial to primary follicle transition. *Mol Cell Endocrinol*, 2000; 163: 53-60.
3. **Kocabas AM, Crosby J, Ross PJ, Out HH, Beyhan Z, Can H, Tam WL, Rosa GJ, Halgren RG, Lim B,**

- Fernández E, Cibelli JB.:** The transcriptome of human oocytes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006; 103(38): 14027-32.
4. **Yoon S, Kim K, Chung H, Choi D, Lee W, Cha K, Lee K.:** Gene expression profiling of early follicular development in primordial, primary, and secondary follicles. *Fert Ster*, 2006; 85(1): 193-203.
5. **Pangas SA, Woodruff TK.:** Activin signal transduction pathways. *Trends Endocrinol Metab*, 2000; 11(8): 309-14.
6. **Hernández ER, Hurwitz A, Botero L, Ricciarelli E, Werner H, Roberts CT Jr, LeRoith D, Adashi EY.:** Insulin-like growth factor receptor gene expression in the rat ovary: divergent regulation of distinct receptor species. *Mol Endocrinol*, 1991; 5(12): 1799-805.
7. **Hernández ER, Hurwitz A, Vera A, Pellicer A, Adashi EY, LeRoith D, Roberts CT Jr.:** Expression of the genes encoding the insulin-like growth factors and their receptors in the human ovary. *J Clin Endocrinol Metab*, 1992; 74(2): 419-25.
8. **Matzuk MM, Burns KH, Viveiros MM, Eppig JJ.:** Intercellular Communication in the Mammalian Ovary: Oocytes Carry the conversation. *Science*, 2002; 296: 2178-2180.
9. **Shimada M, Terada T.:** FSH and LH induce progesterone production and progesterone receptor synthesis in cumulus cells: a requirement for meiotic resumption in porcine oocytes. *Mol Hum Reprod*, 2002; 8(7): 612-8.
10. **Adashi E, Leung PCK.:** The Ovary: Comprehensive Endocrinology. Raven New York, 1993.
11. **Peramo B, Ricciarelli E, Hernández ER.:** Regulación intraovárica de la foliculogénesis. Factores de crecimiento. *Reproducción Humana*. McGraw-Hill. Interamericana, 2002.
12. **Guigon CJ, Magre S.:** Contribution of Germ cells to the differentiation and maturation of the ovary: insights from models of germ cell depletion. *Biol Reprod*, 2006; 74: 450-458.
13. **Driancourt MA, Reynaud K, Cortvrindt R, Smits J.:** Roles of KIT and KIT LIGAND in ovarian function. *Reproduction*, 2000; 5: 143-152.
14. **Hutt KJ, Mc Laughlin EA, Holland MK.:** Kit/Kit ligand in mammalian oogenesis and folliculogenesis: roles in rabbit and murine ovarian follicle activation and oocyte growth. *Biol Reprod*, 2006; 75(3): 421-33.
15. **Thomas FH, Vanderhyden BC.:** Oocyte-granulosa cell interactions during mouse follicular development: regulation of kit ligand expression and its role in oocyte growth. *Reprod Biol Endocrinol*, 2006; 12(4): 19.
16. **Miyoshi T, Otsuka F, Suzufki J, Takeda M, Inagaki K, Kano Y, Otani H, Mimura Y, Ogura T, Makino H.:** Mutual Regulation of Follicle-Stimulating Hormone Signaling and Bone Morphogenetic Protein

- System in Human Granulosa Cells. *Biol Reprod*, 2006; 74(6): 1073-82.
17. **Evans WH, Martin PEM.:** Lighting up gap junction channels in a flash. *BioEssays*, 2002; 24: 876-880.
 18. **Kidder GM, Mhawi AA.:** Gap junctions and ovarian folliculogenesis. *Reproduction*, 2002; 123(5): 613-20.
 19. **Wright CS, Becker DL, Lin JS, Warner AE, Hardy K.:** Stage-specific and differential expression in the mouse ovary: connexin-specific roles in follicular regulation. *Reproduction*, 2001; 121(1): 77-88.
 20. **Juneja SC, Barr KJ, Enders GC, Kidder GM.:** Defects in the germ line and gonads of mice lacking connexin 43. *Biol Reprod*, 1999; 60(5): 1263-70.
 21. **Ackert CL, Gittens JE, O'Brien MJ, Eppig JJ, Kidder GM.:** Intercellular communication via connexin 43 gap junctions is required for ovarian folliculogenesis in the mouse. *Dev Biol*, 2001; 233(2): 258-70.
 22. **Granot I, Dekel N.:** The ovarian gap junction protein connexin 43: regulation by gonadotropins. *Trends Endocrinol Metab*, 2002; 13(7): 310-313.
 23. **Yogo K, Ogawa T, Akiyama M, Ishida N, Takeya T.:** Identification and functional analysis of novel phosphorylation sites in Cx43 in rat primary granulosa cells. *FEBS Lett*, 2002; 531(2): 132-6.
 24. **Yogo K, Ogawa T, Akiyama M, Ishida-Kitagawa N, Sasada H, Sato E, Takeya T.:** PKA implicated in the phosphorylation of Cx43 induced by stimulation with FSH in rat granulosa cells. *J Reprod Dev*, 2006; 52(3): 321-8.
 25. **Gittens JE, Barr KJ, Vanderhyden BC, Kidder GM.:** Interplay between paracrine signaling and gap junctional communication in ovarian follicles. *J Cell Sci*, 2005; 118(1): 5071-8.
 26. **Goodenough DA, Simon AM, Paul DL.:** Gap Junctional intercellular communication in the mouse ovarian follicle. *Novartis Found Symp*, 1999; 219: 226-35.
 27. **Teilmann SC.:** Differential expression and localization of connexin-37 and connexin-43 in follicles of different stages in the 4-week-old mouse ovary. *Mol Cell Endocrinol*, 2005; 234(1-2): 27-35.
 28. **Simon AM, Chen H, Jackson CL.:** Cx37 and Cx43 localize in zona pellucida in mouse ovarian follicles. *Cell Commun Adhes*, 2006; 13(1-2): 61-77.
 29. **Gittens JE, Kidder GM.:** Differential contributions of connexin 37 and connexin 43 to oogenesis revealed in chimeric reaggregated mouse ovaries. *J Cell Sci*, 2005; 118(21): 5071-8.
 30. **Simon AM, Mc Whorter AR.:** Vascular abnormalities in mice lacking the endothelial gap junction proteins connexin 37 and connexin 40. *Dev Biol*, 2002; 251(2): 206-20.
 31. **Schuldt A.:** Cadherins reach out. *Nat Cell Biol*, 2005; 7(12): 1066.
 32. **Machell NH, Blaschuk OW, Farookhi R.:** Developmental expression and distribution of N- and E-cadherin in rat ovary. *Biol Reprod*, 2000; 63(3): 797-804.
 33. **Machell NH, Farookhi R.:** E- and N-cadherin expression and distribution during luteinization in the rat ovary. *Reproduction*, 2003; 125(6): 791-800.
 34. **Ziv S, Rufas O, Shalgi R.:** Cadherins expression during gamete maturation and fertilization in the rat. *Mol Reprod Dev*, 2002; 62(4): 547-56.
 35. **Larue L, Ohsugi M, Hirchenhain J, Kemler R.:** E-cadherin null mutant embryos fail to form a trophectoderm epithelium. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996; 91(17): 8263-7.
 36. **Campbell S, Swann HR, Seif MW, Kimber SJ, Aplin JD.:** Cell adhesion molecules on the oocyte and preimplantation human embryo. *Human Reprod*, 1995; 10(6): 1571-8.
 37. **Lu DP, Tian L, O'Neill C, King NJ.:** Regulation of cellular adhesion molecule expression in murine oocytes, peri-implantation and post-implantation embryos. *Cell Res*, 2002; 12(5-6): 373-83.
 38. **Clavero A, Castilla JA, Martínez I, Mendoza N, Fontes J, Maldonado V.:** Expression of integrin fraction and adhesion molecules on human granulosa cells and its relation with oocyte maturity and follicular steroidogenesis. *J Assist Repro Genet*, 2004; 21(6): 187-95.
 39. **Ahmed N, Riley C, Rice G, Quinn M.:** Role of integrin receptors for fibronectin, collagen and laminin in the regulation of ovarian carcinoma functions in response to a matrix microenvironment. *Clin Exp Metastasis*, 2005; 22(5): 391-402.
 40. **Irving-Rodgers HF, Rodgers RJ.:** Extracellular matrix in ovarian follicular development and disease. *Cell Tissue Res*, 2005; 322(1): 89-98.
 41. **Irving-Rodgers HF, Rodgers RJ.:** Extracellular matrix of the developing ovarian follicle. *Semin Reprod Med*, 2006; 24(4): 195-203.
 42. **Shozu M, Minami N, Yokoyama H, Inoue M, Karihara H, Matsushima K, Kuno K.:** ADAMTS-1 is involved in normal follicular development, ovulatory process and organization of the medullary vascular network in the ovary. *J Mol Endocrinol*, 2005; 35(2): 343-55.
 43. **Russel DL, Salustri A.:** Extracellular matrix of the cumulus-oocyte complex. *Semin Reprod Med*, 2006; 24(4): 217-27.
 44. **Curry TE, Smith MF.:** Impact of extracellular matrix remodelling on ovulation and the follicle-luteal transition. *Semin Reprod Med*, 2006; 24(4): 228-41.
 45. **Berkholtz CB, Lai BE, Woodruff TK, Shea LD.:** Distribution of extracellular matrix proteins type I collagen, type IV collagen, fibronectin and laminin in

- mouse folliculogenesis. *Histochem Cell Biol*, 2006; 126(59): 583-92.
46. **Berkholtz CB, Shea LD, Woodruff TK.:** Extracellular matrix functions in follicle maturation. *Semin Repro Med*, 2006; 24(4): 262-9.
47. **Burns KH, Owens GE, Fernández JM, Nilson JH, Matzuk MM.:** Characterization of integrin expression in the mouse ovary. *Biol Reprod*, 2002; 67(3): 743-51.
48. **Pate BJ, White KL, Winger QA, Rickords LF, Aston KI, Sessons BR, Li GP, Campbell KD, Weimer B, Bunch TD.:** Specific integrin subunits in bovine oocytes, including novel sequences for alpha 6 and beta 3 subunits. *Mol Reprod Dev* 12, 2006.
49. **Nakamura K, Fujiwara H, Higuchi T, Honda T, Nakayama T, Kataoka N, Fujita K, Ueda M, Maeda M, Mori T.:** Integrin alpha6 is involved in follicular growth in mice. *Biochem Biophys Res Commun*, 1997; 235 (3): 524-8.
50. **Honda T, Fujiwara H, Ueda M, Maeda M, Mori T.:** Integrin alpha 6 is a differentiation antigen of human granulosa cells. *J Clin Endocrinol Metab*, 1995; 80(10): 2899-905.
51. **Fujiwara H, Maeda M, Honda T, Yamada S, Ueda M, Kanzaki H, Suginami H, Mori T.:** Granulosa cells express integrin alpha 6: posible involvement of integrin alpha 6 in folliculogenesis. *Horm Res*, 1996; 46(1): 24-30.
52. **Takao Y, Fujiwara H, Yamada S, Hirano T, Maeda M, Fujii S, Ueda M.:** CD9 is expressed on the cell surface of human granulosa cells and associated with alpha6beta1. *Mol Hum Reprod*, 1999; 5(4): 303-10.
53. **Assou S, Anahory T, Pantesco V, Le Corrouer T, Pellestor F, Lein B, Reyftmann L, Dechaud H, De Vos J, Hamamah S.:** Cumulus-oocyte complex gene-expression profile. *Human Reprod*, 2006; 21(7): 1705-1719.
54. **Sato E, Yokoo M.:** Morphological and biochemical dynamics of porcine cumulus-oocyte complexes: role of cumulus expansion in oocyte maturation. *Ital J Anat Embryol*, 2005; 110(2): 205-17.