



Potential Role of Exosomes in the Male Reproductive System

Oya Korkmaz^{1,a,*}, Mustafa Numan Bucak^{2,b}

¹Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Malatya Turgut Ozal University, Malatya, Türkiye

²Department of Reproduction and Artificial Insemination, Faculty of Veterinary Medicine, Selcuk University, Konya, Türkiye

*Corresponding author

Review

History

Received: 10/11/2024

Accepted: 12/12/2024

ABSTRACT

Infertility is a reproductive disorder that can affect both men and women and has become a global health problem. Approximately 50% of infertile cases are known to be caused by male reproductive disorders. Exosomes are nano-sized membrane vesicles secreted by a wide variety of cells and abundant in biological fluids, including semen. They contain lipids, proteins, microRNAs, and mRNAs and are known to play important roles in intracellular communication. Seminal exosomes mainly contain epididymosomes and prostasomes. Studies show that exosomes play a central role in regulating reproductive processes. The use of exosome therapy has significant potential in the treatment of infertility in patients. The amount of these membrane vesicles in biological fluids can be linked to physiological and pathological conditions. The molecular composition of seminal plasma and seminal exosomes, who regulates vesicle trafficking and fusion with spermatozoa, and what are the exosomal functions in sperm physiology remain unclear. This review focuses on discussing the effects of exosomes on the male reproductive system. By analysing current research findings on this topic, the knowledge on the contribution of exosomes to male reproductive health is highlighted.

Keywords: Exosome, Male infertility, Leydig cell, Sertoli cell, Spermatogenesis

Erkek Üreme Sisteminde Eksozomların Potansiyel Rolü

Süreç

Geliş: 10/11/2024

Kabul: 12/12/2024

ÖZ

İnfertilite hem erkekler de hem de kadınlarda görülebilen bir üreme sistemi bozukluğudur ve küresel bir sağlık sorunu haline gelmiştir. İnfertil vakaların yaklaşık %50'sinin erkek üreme bozukluklarından kaynaklandığı bilinmektedir. Eksozomlar, çok çeşitli hücreler tarafından salgılanan ve semen de dahil olmak üzere biyolojik sıvılarda bol miktarda bulunan nano boyutlu membran vezikülleridir. Lipidler, proteinler, mikroRNA'lar ve mRNA'lar içerirler ve hücre içi iletişimde önemli rol oynadıkları bilinmektedir. Seminal eksozomlar esas olarak epididimozomları ve prostasomları içerir. Yapılan çalışmalar, eksozomların üreme süreçlerini düzenlemede merkezi bir rol oynadığını göstermektedir. Eksozom tedavisinin kullanımı, hastalarda infertilite tedavisinde önemli bir potansiyele sahiptir. Bu membran veziküllerinin biyolojik sıvılardaki miktarı, fizyolojik ve patolojik durumlarla bağlantılı olabilir. Seminal plazmanın ve seminal eksozomların moleküler bileşimi, vezikül trafiği ve spermatozoa ile füzyonunu kimin düzenlediği ve sperm fizyolojisindeki eksozomal işlevlerin neler olduğu hala belirsizliğini korumaya devam etmektedir. Bu derleme, eksozomların erkek üreme sistemi üzerindeki etkilerini tartışmaya odaklanmaktadır. Bu konudaki güncel araştırma bulguları analiz edilerek, erkek üreme sağlığı üzerindeki eksozomların katkısı hakkındaki bilgiler vurgulanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Eksozom, Erkek infertilitesi, Leydig hücresi, Sertoli hücresi, Spermatogenez

Copyright



This work is licensed under
Creative Commons Attribution 4.0
International License

^a oya.korkmaz@ozal.edu.tr

^b <https://orcid.org/0000-0003-2923-5869> | ^b mnumanbucak@gmail.com

^b <https://orcid.org/0000-0002-2955-8599>

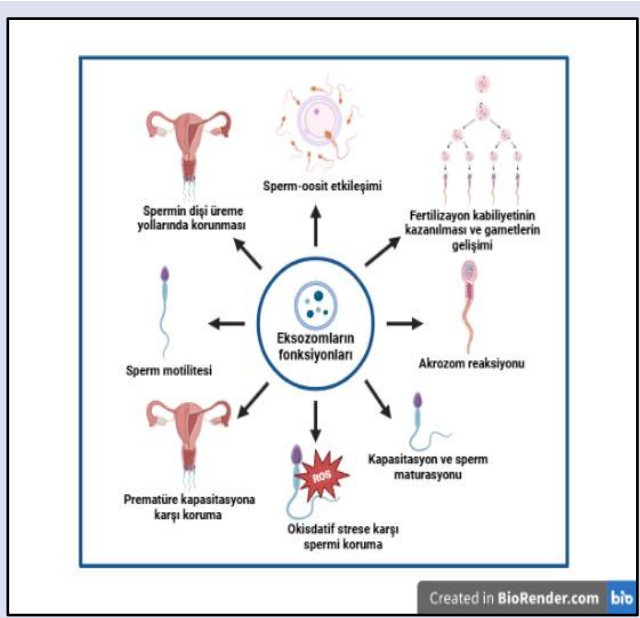
How to Cite: Korkmaz O, Bucak MN (2024) Potential Role of Exosomes in the Male Reproductive System, Journal of Health Sciences Institute, 9(3): 404-416

Giriş

Memelilerde testis gelişimi kompleks mekanizmaları kapsamaktadır. Testis sperm ve androjen üretir ve germ hücreleri ile diğer hücreler arasındaki iletişimi kolaylaştıran, erkek üreme sağlığı için gerekli olan ve fertilitede önemli bir rol oynayan sperm hücresi gelişiminin karmaşık süreci olan testis gelişimini ve spermatogenez destekleyen eksozomlar ve sitokinleri içerir (Ibtisham ve ark., 2017). Bu kompleks süreç, testislerin seminifer tübülleri içindeki germ hücrelerinin çoğalması, farklılaşması ve olgunlaşması dahil olmak üzere birçok olayı içerir. Spermatogenezin uygun şekilde düzenlenmesi, başarılı döllenme ve türlerin devamı için gerekli olan fonksiyonel spermatozoa üretimi için çok önemlidir (Schlatt ve Ehmcke, 2014; Neto ve ark., 2016).

Eksozomlar, uzun yıllar hücre artıklarını temizleyen organeller olarak kabul edilen, çapı 30-150 nm olan zarlı nanoveziküllerdir. İlk olarak 1996 yılında Raposo ve ark. bunların immünolojik süreçlerde yer aldığını öne sürmüştür (Raposo ve ark., 1996). Günümüzde, eksozomların hücreler arası iletişimde önemli roller oynadığı ve vücut sıvıları aracılığıyla hedef hücrelere ulaştığı kabul edilmektedir. Eksozomlar, çeşitli bileşimleri ve çok yönlü işlevleri nedeniyle son yıllarda büyük ilgi görmeye başlamıştır. Eksozomların erkek üremesindeki rolü son zamanlarda ilgi uyandırmış ve araştırmalar, eksozomların germ hücre gelişimi, sperm fonksiyonu ve epididimal olgunlaşma üzerindeki etkilerinin yanı sıra fertilitate modülatörü olarak rollerini tanımlamaya

odaklanmıştır (Sullivan, 2016; Ahmed ve ark., 2016; Machtiger ve ark., 2016) (Resim 1).



Resim 1. Eksozomların erkek üreme sistemindeki fonksiyonları

Figure 1. Functions of exosomes in the male reproductive system.

Spermatozoa, döllenme görevinde hız ve etkinlik kazanmak için bir kuyruk bölümüne sahiptir. Farklı eklenti bezler tarafından üretilen ve seminal plazmayı oluşturan sıvıların yardımıyla kadın genital kanalında ilerler. Normal semen, yaklaşık %5 spermatozoa ve %95 seminal plazmanın bir karışımıdır. Semen hücreli olmayan sıvı bileşeni olan seminal plazma, testis, epididimis prostat, cowper (bulboüretal) ve litre (periüretal) bezleri ile duktus deferens ampullasından gelen salgılardan oluşur ve seminal veziküllerin büyük bir katkısı sahiptir (Vasan, 2011; Aalberts ve ark., 2014; Drabovich ve ark., 2014; Jodar ve ark., 2017; Johnson, 2018; Samanta ve ark., 2018). Seminal plazma, hücre dışı veziküller veya eksozomlar içinde kapsüllenmiş proteinler, RNA'lar ve lipitler bakımından zengindir. Tüm bu bileşenler heterojen bir şekilde bir ejakülat içinde değişen oranlarda bulunurlar. Seminal plazma bileşiminin heterojen olması seminal plazmanın sadece sperm taşıma işlevine sahip olmadığını göstermektedir. Hem erkek hem de kadın üreme yolları boyunca spermatozoa, esas olarak eksozomlar yoluyla gerçekleşen yoğun bir iletişim yoluyla metabolizmalarını, hücre içi yapılarını ve biyokimyasal bileşimlerini modüle edebilen yeni bir hücre dışı ortamla karşılaşmaktadır.

Proteinlerin spermatozoaya aktarılması seminal eksozomların ortak bir özelliğidir ve farklı vezikül popülasyonlarının farklı görevleri yerine getirip getirmediği halen tartışmalıdır. Seminal proteomun analizi üzerine yapılan çalışmalar, bu sınıfın sperm fizyolojisinin, hareketliliğinin, morfolojisinin,

konsantrasyonunun ve oksidasyondan korunmasının sağlanmasında görev aldığını ortaya koymaktadır (Milardi ve ark., 2012; Agarwal ve ark., 2014; Gilany ve ark., 2015; Lin ve ark., 2019; De Lazari ve ark., 2019). Ayrıca, sperm hareketliliği için gerekli Ca^{2+} sinyal mekanizması doğrudan seminal plazmadan elde edilmektedir (Park ve ark., 2011). Benzer şekilde seminal eksozomlar, sperm kapasitasyonunu kontrol eden önemli bir hücre içi sinyal olayı olan tirozin fosforilasyonunu düzenleyebilir (Bechoua ve ark., 2011). Tüm bu sperm işlevlerinin düzenlenmesi eksozomların spermatozoa membranına bağlanma ve onlarla kaynaşma yeteneğine bağlıdır; pH, sıcaklık ve çinko konsantrasyonları gibi çeşitli koşulların spermatozoa tarafından eksozomal alımı etkilediği gösterilmiştir (Arienti ve ark., 1999a; Vivacqua ve ark., 2004; Aalberts ve ark., 2013). Bununla birlikte, spermatozoa ejakülasyondan sonra hala motilite, kapasitasyon ve kalite açısından anahtar proteinlerin eksozomal transferinden faydalanmaktadır (Murdica ve ark., 2019). Bu sonuçlar, seminal proteomik profilin infertilitenin biyobelirteci olarak hizmet edebileceğini göstermektedir. Bu bağlamda, normospermik, astenospermik ve azospermik hastaların seminal plazmalarından izole edilen eksozomlar şekil, boyut ve tipik eksozomal belirteçlerin ekspresyonu açısından benzer özellikler gösterse de, yük bakımından farklılık gösterirler. Seminal plazmanın ve seminal eksozomların moleküler bileşimi, vezikül işlemi ve spermatozoa ile füzyonunu kimin düzenlediği ve sperm fizyolojisindeki eksozomal işlevlerinin neler olduğu hala belirsizliğini korumaya devam etmektedir. Bu derleme, eksozomların erkek üreme sistemi üzerindeki önemini ve etkilerini tartışmaya odaklanmaktadır. Bu konudaki güncel araştırma bulguları analiz edilerek, eksozomların erkek üreme sağlığı ve fertilitesi üzerindeki etkisine ışık tutulması amaçlanmaktadır.

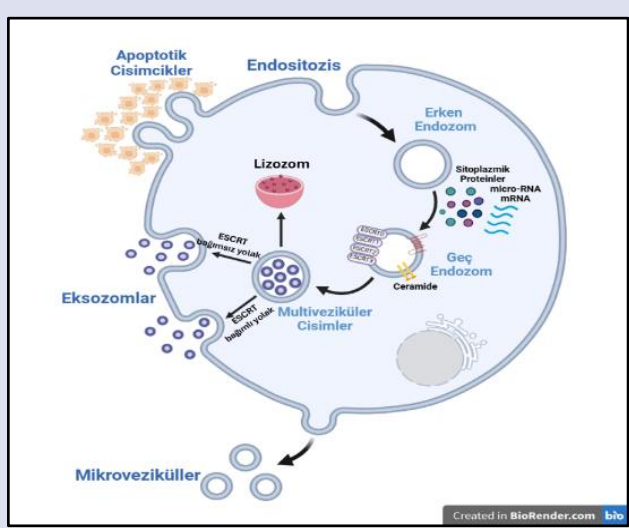
Eksozomlar

Oluşumu, taşınması, izolasyonu ve tanımlanması:

Biyogenez, partikül boyutu ve luminal içeriğe bağlı olarak üç tip ekstrasellüler vezikül (EV) tanımlanmıştır. Bunlar; Eksozomlar, Mikroveziküller ve Apoptotik cisimlerdir (Resim 2). Ortalama boyutları 1000-5000 nm olan apoptotik cisimler düzensiz morfolojiler sergiler ve apoptotik hücrelerden salınırlar. Bu partiküller çekirdek parçaları ve hasarlı organeller gibi çeşitli hücre içi bileşenleri içermektedir. Mikroveziküller ikinci ekstrasellüler vezikül tipidir ve 'eksozomlar' olarak bilinirler. Çeşitli homeostatik süreçlere katılma potansiyeli ile hem sağlıklı hem de sitopatik hücrelerden salınırlar. Eksozomlar, ortalama 40-150 nm büyüklüğünde heterojen ekstrasellüler veziküllerdir ve endozomal sistemin aktivitesi ile üretilirler (Mobarak ve ark., 2019). Hücre içi plazmik membran invajinasyonu ile erken bir salgı endozomu oluşur, bu endozom daha sonra içe doğru tomurcuklanır ve proteinleri, nükleik asitleri ve diğer maddeleri sararak daha da olgunlaşır ve endozomda bulunan ve multivesiküler cisimler (MVB) olarak adlandırılan intraluminal vezikülleri (ILV) oluşturur.

Proteinler, lipitler ve nükleik asitler de dahil olmak üzere kargo, multiveziküler gövdeler içinde oluşumları sırasında seçici olarak intraluminal veziküllere dahil edilir (Sinha ve ark., 2021). Plazma zarıyla füzyon üzerine, çoğu intraluminal vezikül hücre dışı boşluğa salınır ve ekzosomlar olarak adlandırılır (Resim 2). Ekzosomlar hazırlama sırasında yapay olarak kurutulduğunda, belirgin bir bikonkav veya fincan benzeri şekil sergilerler. Transmisyon elektron mikroskobu (TEM) altında küresel şekilde görünürler (Yellon ve Davidson, 2014). Sakkaroz gradyanlarında, farklı hücre tiplerinden türetilen ekzosomlar 1,13 g/mL-1,19 g/mL arasında bir yoğunluk aralığına sahiptir (Zakharova ve ark., 2007).

Intraluminal vezikül oluşumu (ILV), karmaşık bir protein mekanizması olan taşıma için gerekli endosomal sıralama kompleksine (ESCRT) bağlıdır (Resim 2). ESCRT, multiveziküler gövdelerin oluşumunu, vezikül tomurcuklanmasını ve protein kargolarının sıralanmasını kolaylaştırmak için iş birliği yapan dört ayrı protein kompleksinden (ESCRT 0-III) oluşur. ESCRT mekanizması, ESCRT-0'ların ubiquitin bağlayıcı alt birimlerini kullanarak ubiquitinlenmiş proteinleri tanımlayıp endosomal membranın belirli bölgelerine ayırarak başlar. Daha sonra ESCRT-I ve ESCRT-II kompleksleriyle etkileşime girerek, vezikül tomurcuklanmasını kolaylaştıran başka bir protein kompleksi olan ESCRT-III'e katılan tam bir kompleks oluşturur. Tomurcuklar intraluminal vezikülleri oluşturmak üzere parçalandıktan sonra, ESCRT-III kompleksi, ayırma proteini Vps4'ün yardımıyla multiveziküler gövde membranından ayrılır.



Resim 2. Ekzosomların üretimi ve salgılanması (Quadri ve ark., 2022'den revize edildi)

Figure 2. Production and secretion of exosomes (revised from Quadri et al., 2022)

Son araştırmalar, ESCRT mekanizmasına dayanmayan ekzosomal kargoyu multiveziküler gövdelere ayırmak için alternatif bir yol olduğunu ileri sürmektedir. Bu yol, seramidler üreten sfingomiyelinazlar içeren endosomal membran içinde raft tabanlı mikro alanlar olarak bilinen özel

bölgeleri içerir (Airola ve Hannun, 2013; Skryabin ve ark., 2020). Seramidler, kendiliğinden bükülmeyi ve tomurcuklanma sürecini teşvik ederek belirgin zar bölgelerinin oluşumunu başlatır ve ekzosom biyogenezinde lipitlerin önemini ortaya koyar (Castro ve ark., 2014). Tetraspaninler, özellikle CD81, ayrıca tetraspaninle zenginleştirilmiş mikro alanlarda reseptörleri ve sinyal proteinlerini düzenleyerek ekzosom oluşumuna ve kargo yüklenmesine katkıda bulunur (Perez-Hernandez ve ark., 2013). Bu mikro alanlar, tetraspanin CD81 ile birlikte, belirli reseptörlerin ve hücresel bileşenlerin ekzosomlara ayrılmasına yardımcı olur (Van den Boorn ve ark., 2013). Tetraspaninleri ve lipitleri içeren, ESCRT'ye bağımlı veya bağımsız bu mekanizmalar hücre tipine bağlı olarak değişir (Patil ve Rhee, 2019).

Çeşitli hücre tiplerinden elde edilen ekzosomlar, 4400'den fazla protein, 194 lipid, 1639 mRNA ve 764 miRNA dahil olmak üzere çok çeşitli bileşenler içerir (Mathivanan ve ark., 2012). Ekzosomlar epitel hücreleri, T hücreleri, B hücreleri, trombositler ve dendritik hücreler de dahil olmak üzere çok çeşitli hücreler tarafından salgılanır. Günümüzde, ekzosomların hücreler arası iletişimde önemli rol oynadığı ve vücut sıvıları yoluyla hedef hücrelere ulaştığı bilinmektedir. Ekzosomlar plazma, anne sütü, amniyotik sıvı, tükürük ve semen gibi çeşitli vücut sıvılarında hem normal hem de anormal koşullar altında görülebilir (Keller ve ark., 2007; Houali ve ark., 2007; Admyre ve ark., 2007; Wang ve ark., 2008; Nilsson ve ark., 2009; Miksa ve ark., 2009). Ekzosomların kaynaklandıkları hücreye bağlı olarak çeşitli rollere sahip olduğu bilinmektedir. Bu işlevler arasında immünolojik yanıtta rol oynamak, antijenleri sunmak, programlanmış hücre ölümünü kolaylaştırmak, anjiyogenezi teşvik etmek, inflamasyonu indüklemek, pıhtılaşmaya yardımcı olmak ve gelişim ve farklılaşma sürecinde morfojen taşıyıcıları olarak hizmet etmek sayılabilir (Gurunathan ve ark., 2021). Yapılan araştırmalardan elde edilen veriler, ekzosomların hem üreme gelişiminde hem de üreme bozukluklarında önemli bir rol oynadığını net olarak ortaya koymaktadır (Esfandyari ve ark., 2021; Kowalczyk ve ark., 2022).

Ekzosomlar ve Erkek Üreme Sistemi

Son yıllarda, erkek üreme sisteminde ekzosomların rolleri dikkat çekmeye başlamış ve germ hücresi gelişimi, sperm fonksiyonu, epididimal olgunlaşma ve erkek fertilesini nasıl etkileyebileceğini ele almak için in vivo ve in vitro birçok araştırma yapılmıştır (Baskaran ve ark., 2020; Mobarak ve ark., 2021). Yang ve ark. (2017), metabolizma, protein sentezi, büyüme ve taşıma ile ilişkili olan semen ekzosomunda 1474 proteinin varlığını bildirmiştir. Erkek fertilesi ve anaplastik değişikliklerle ilgili patolojik durumların ekzosom proteomunun izlenmesi ve karşılaştırmalı analitik çalışmalarla belirlenebileceğini ileri sürmüşlerdir (Yang ve ark., 2017). Spermatozoa semene yüksek miktarda ekzosom verebildiğinden, ekzosom miktarının belirlenmesi spermatogenezin durumu hakkında bilgiler verebilmektedir (Vickram ve ark., 2021). Sousa ve ark. (2017) tarafından yapılan bir araştırma, ekzosomun

bağışıklık hücre modülasyonunda ve doğal öldürücü (natural killer, NK) hücre aktivitesinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığını ortaya koymuştur (Sousa ve ark., 2017). Ayrıca semen eksozomal miRNA'larının araştırıldığı bir başka çalışmada, miRNA profilinin bağışıklık hücresi aktivitesine ve çeşitli patolojik durumlara yanıt olarak değiştirilebileceği bildirilmiştir (Ronquist ve ark., 2016). Sertoli hücreleri, testis parankimi içindeki NK hücrelerinin dinamik büyümesini düzenlemek için eksozomlar aracılığıyla TGF- β , Aktivin A ve Galektin-1 gibi çeşitli immünomodülatör sitokinleri serbest bırakabilir (Duan ve ark., 2020). Eksozomlar, interstisyel boşluk ve seminifer tübüller içindeki sperm yolculuğuyla alınabilir (Yeung ve ark., 1998; Choy ve ark., 2022). Sertoli hücreleri gibi, Leydig hücreleri ve testis dokusunun makrofajları, sperm transkriptom yükünde seçili kodlamayan RNA'ların bulunabileceği eksozomlar üretebilir (Choy ve ark., 2022). Seminal eksozom, sperm olgunlaşmasıyla ilişkili çok sayıda faktörün kaynağıdır ve bu faktörlerin ekzomal seviyelerindeki değişiklikleri, belirli patolojik durumların türünü ve ilerlemesini tahmin edilmesine yardımcı olabilir (Kirchhoff ve ark., 1996; Yeung ve ark., 1998). Bu özellikler, eksozomların erkek üreme sistemindeki çok yönlü aktivitesini ortaya koymaktadır.

Yapılan bir çalışmada yaban domuzu seminal plazma eksozomlarının sperm fonksiyonunun sürdürülmesine yardımcı olduğu keşfedilmiş ve eksozomlarla desteklenen semen örneklerinde daha yüksek sperm motilitesi ve plazma membran bütünlüğü değerleri bulunmuştur. Ayrıca, lipid peroksidasyonunun bir sonucu olan Malondialdehit (MDA) konsantrasyonu, eksozom takviyeli grupta kontrole göre daha düşük olarak gözlemlenmiştir. Bu çalışma, seminal plazma eksozomlarının sperm hareketliliğini, sperm membran bütünlüğünü ve antioksidan kapasitesini korumaya yardımcı olduğunu göstermektedir (Du ve ark., 2016).

Fertil olduğu bilinen bir boğanın seminal plazmasından elde edilen eksozomların, düşük fertiliteye sahip semenin dölleme kapasitesini iyileştirmek için kullanıldığı bir çalışma yapılmıştır (Lange-Consiglio ve ark., 2022). Üç saatlik inkübasyonda, eksozomla inkübe edilmiş sperm in ilerleyen hareketliliği, kontrol olarak kullanılan inkübe edilmemiş sperminkinden önemli ölçüde daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca bu çalışmada, in vitro embriyo üretimi için fertil olduğu bilinen boğaların eksozomları ile kombine edilmiş zayıf fertil sperm kullanılmıştır. Blastosist oluşum oranı, eksozom içermeyen sperm in hemen hemen iki katına çıkmıştır. Bunun nedeni, seminal eksozomlarda bulunan kimyasalların gametlerin olgunlaşmasına, oositlerle etkileşime geçmek üzere göç etmesine ve döllemeye yardımcı olması olabilir (Lange-Consiglio ve ark., 2022).

Ayrıca, eksozomların sperm hareketliliğini değiştirebilecek mikroRNA' lar (miRNA) içerdiği bilinmektedir. Yüksek ve düşük sperm hareketliliğine sahip domuzlardan sperm topladıkları ve iki grup arasındaki eksozomal RNA'nın diferansiyel ekspresyonunu inceledikleri bir çalışma yapılmış, iki

grupta 7 miRNA, 67 lncRNA (uzun kodlamayan RNA), 126 mRNA (mesajcı RNA) ve 76 proteinin ifadesinde farklılıklar gözlemlenmiştir. Ayrıca, eksozom ile sperm taşıyan miR-222'nin sperm apoptozunu azalttığı görülmüştür (Ding ve ark., 2021),

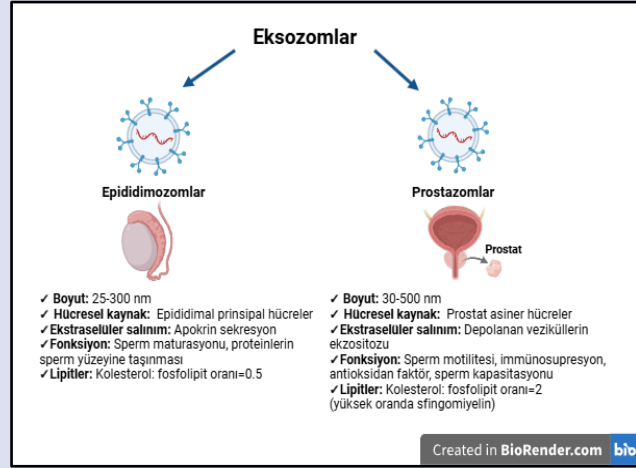
Yapılan bir çalışmada, yüksek ve düşük sperm hareketliliğine sahip manda boğalarından üretilen seminal plazma eksozomlarının karşılaştırmalı bir proteom araştırması yapılmış; yüksek motiliteli seminal plazma eksozomlarına kıyasla düşük motiliteli seminal plazma eksozomlarında 119 down regüle edilmiş ve 41 upregüle edilmiş protein saptanmıştır. Bu proteinlerin düşük hareketli seminal plazma eksozomlarının down regüle edilen spermelerde oositi tanıma, dölleme, tekli dölleme, sperm-zona pellusida bağlanması ve hücre tanımadaki rol oynadığı gösterilmiştir (Yu ve ark., 2023). Düşük hareketlilik grubundaki seminal plazma eksozomlarında down regüle edilen proteinlerden bazıları şunlardır: IZUMO1 (izumo sperm-oosit füzyon 1), SPACA1 (Sperm akrozom ilişkili 1), ACRV1 (Akrozomal vezikül proteini 1), ACRBP (Akrozom bağlayıcı protein) ve ZBPB (Zona pellusida bağlayıcı protein). Bunlardan IZUMO1, SPACA1, ACRV1 proteinleri sperm-oosit füzyonunda kritik rol oynar. ACRBP, akrozom partiküllerinin üretilmesine katkıda bulunur ve ZBPB, sperm in zona pellusidayı geçmesine yardımcı olur.

Seminal Eksozomlar

Semen hücresel (spermatozoa) ve hücresel olmayan (seminal plazma) bileşenler içerir. Testislerden (%2-5), epididimis ve prostat (%20-30), seminal veziküllerden (%65-75) ve bulboüretal ve periüretal bezden (yaklaşık %1) gelen salgılar seminal plazmayı oluşturur. Bu salgı lipidler, şeker, büyüme faktörleri, transkripsiyon faktörleri ve proteinlerle zenginleştirilmiştir ve spermatozoanın hem erkek hem de kadın üreme kanalındaki yolculuğu sırasında beslenmesi ve korunması için ideal bir ortam sağlar. Seminal plazma sperm olgunlaşması, kapasitasyon, akrozom reaksiyonu ve döllemede önemli bir rol oynar. Seminal plazmada bulunan heterojen eksozom popülasyonunun, sperm fonksiyonlarıyla ilişkili bu temel süreçleri olumlu yönde etkilediği bilinmektedir (Machttinger ve ark., 2016).

Seminal eksozomlar toplam seminal plazma proteininin %3'üne katkıda bulunur ve epididimozom ve prostazomları içerir (Resim 3). Şekerler, oligosakkaritler, glikanlar, lipidler, inorganik iyonlar (kalsiyum, magnezyum, potasyum, sodyum ve çinko) ve küçük metabolitler seminal plazmanın bileşenidir. Galaktoz ve sialik asit esas olarak bulboüretal bezler tarafından salgılanır; prostat ejakülatta bulunan sitrik asit, inositol, kalsiyum, çinko ve magnezyumun ana kaynağıdır ve vaz deferens ampulla erkeklerde sorbitolün ana kaynağıdır (Aalberts ve ark., 2014; Johnson, 2018). Seminal veziküllerden gelen salgılar askorbik asit, prostaglandinler ve önemli bir sperm besini olan fruktoz açısından zenginken, L-karnitin ve gliserilfosforilkolon konsantrasyonları epididimal fonksiyonun göstergeleridir (WHO, 1999; Vasan, 2011; Drabovich ve ark., 2014; Aalberts ve ark., 2014; Samanta

ve ark., 2018; Johnson, 2018). Seminal plazma eksozomlarının toplam seminal plazma proteininin %3'ünü oluşturduğu bilinmektedir (Samanta ve ark., 2018). Seminal plazmadaki eksozomlar epididimis ve prostat tarafından salgılanmaktadır. Epididimisten epididimozomlar prostatdan ise prostasomlar salgılanır (Resim 3).



Resim 3. Erkek üreme sistemindeki eksozom çeşitleri (Sullivan ve Saez, 2013'ten revize edildi)

Figure 3. Types of exosomes in the male reproductive system (revised from Sullivan and Saez, 2013)

Epididimdeki eksozomlar: Epididimozomlar

Testisten ayrıldıktan sonra, spermatozoa epididimise geçer ve ardından vas deferens'e ulaşır. Epididimis sperm depolama (distal kauda) ve taşımaya ek olarak sperm olgunlaşmasında ve sperm heterojenliğinin sağlanmasında da rol oynar. İnsanlarda epididimis, proksimal kaput (baş), orta uzun korpus (gövde) ve distal kauda (kuyruk) olmak üzere üç bölüme ayrılır. Bu organın epiteli, intraluminal mikroçevrenin oluşumuna katkıda bulunan sıkı bağlantılı karakterize olan kan-epididimal bariyerine sahiptir. Bu bariyer, moleküllerin lümenine girip çıkmasını düzenlemekten sorumludur. Dolaşan vücut sıvılarından farklı elektrolit ve makromoleküllerin epididimis intraluminal bileşimi oluşur. Proteinlerin intraluminal sıvı bileşimi epididimisin bir segmentinden diğerine değişir. Epididimise giren spermatozoa hareketsizdir ve dölleme yeteneğinden yoksundur, ancak sürekli değişerek optimum olan epididimis kanalının mikro ortamından geçmeleri, tam olarak işlevsel sperm olgunlaşmalarını kolaylaştırır. Bu sperm olgunlaşma olayı, epididimisin intraluminal sıvısına salgılanan proteinlerin spermatozoa ile etkileşimiyle düzenlenir ve spermde morfolojik ve biyokimyasal değişikliklere neden olur.

Epididimis içindeki eksozomlar olan epididimozomlar, ultrastrüktürel seviyelerde çapı 50-250 nm arasında değişen veziküllerin heterojen popülasyonlarından oluşur ve epitel hücreleri tarafından intraluminal bölmeye salınır (Sullivan, 2016). Apokrin salgılanması, epididimisin önemli bir salgılama yoludur. Bu yol, ana salgılama

hücrelerinin apikal kutbunda, intraluminal bölmeye ayrılan sitoplazmik kabarcıkların oluşumunu içerir. Daha sonra, bu apikal kabarcıklar parçalanır ve epididimozomlar içeriklerini serbest bırakır.

Epididimozomlar ilk olarak hamsterlarda keşfedilmiş, ancak fareler, sıçanlar, koçlar, boğalar ve insanlar gibi çok sayıda memelinin de epididimozomlara sahip olduğu belgelenmiştir (Fornés ve ark., 1995; Rejraji ve ark., 2002; Frenette ve ark., 2002; Thimon ve ark., 2008; Sullivan ve Saez, 2013). Epididimozomlar yüksek kolesterol/fosfolipit oranı ile karakterize edilir ve tetraspaninler, integrinler ve milk fat globule-epidermal büyüme faktör proteini (MFGE8) gibi adezyon moleküllerini içerir (Thimon ve ark., 2008; Girouard ve ark., 2011). Epididimozomlarla ilişkili proteinler spermın subsellüler veya membranöz bölgelerine aktarılır ve dölleme yeteneğinin kazanılmasında, hareketliliğin modülasyonunda ve oksidatif strese karşı korumada rol oynar (Vernet ve ark., 2004; Sullivan ve ark., 2005; Frenette ve ark., 2005; Frenette ve ark., 2006).

Eksozomlar, sperm fonksiyonu ve embriyo gelişimi ile ilişkili olduğuna inanılan çeşitli proteinleri, RNA'ları ve diğer metabolitleri içerir. Epididimozomlarda biriken bileşikler, sperm yüzeyine lipid raft-mediated protein iletimi, sperm yüzeyinde geçici füzyon gözeneklerinin oluşumu ve lipit taşıyıcıları aracılığıyla sperm yüzeyine glikozil fosfatidilinositol ilişkili (GPI) protein iletimi gibi mekanizmalar aracılığıyla olgunlaşan spermatozoalara iletilir (Paul ve ark., 2021). Epididimozomların sperm fizyolojisinde farklı işlevler gerçekleştirdiği bildirilmiştir. Örneğin, veziküllerin bilinen bileşenlerinden biri, olgunlaşma gelişimi sırasında sperm flajellasındaki serbest sülfidril gruplarını etkileyerek Zn²⁺'yi ortadan kaldıran ve böylece sperm hareketliliğini düzenleyen klasik bir T hücre sitokini olan makrofaj göçünü engelleyici faktör (MIF)'dür (Sullivan ve Saez, 2013). Epididimozomların bir diğer proteini olan GPX5'in, sperm DNA bütünlüğünü oksidatif stresten koruduğu gösterilmiştir (Chabory ve ark., 2009). Epididimozomların bazı fraksiyonları ayrıca, ejakülasyon sırasında ölü epididimal spermata aktarılan epididimal sperm bağlayıcı protein 1'e (ELSPBP1) sahiptir. Ayrıca, epididimozomlar epididimal geçiş süreci sırasında ubikitin yoluyla hasarlı spermatozoayı ortadan kaldırılabılır (Sullivan ve Saez, 2013). Buna göre, epididimozomlar düşük kaliteli spermaların tanımlanmasına ve ortadan kaldırılmasına katkıda bulunur ve tersine, yüksek kaliteli spermaları epididimal gelişim evrelerinde korur (Tamessar ve ark., 2021). Ayrıca elde edilen sonuçlar, epididimozomların sperm yeterliliğinde kritik bir rol oynadığını ve babadan gelen epigenetik kalıtım ve epididimal epitel hücreleri arasındaki iletişimde yer alabildiğini ortaya koymaktadır (James ve ark., 2020).

Epididimozomların kodlamayan RNA'yı spermata taşıdığı ve miRNA'nın da bu tür kodlamayan RNA'lardan biri olduğu gözlemlenmiştir. Bir çalışma, epididimozomların köken bölgelerine bağlı olarak farklı miRNA popülasyonları taşıdığını, bu miRNA'ların caput epididimidis'ten gelen epididimozomlarda güçlü ve

önemli ölçüde aşırı eksprese edildiğini ve cauda bölgesinden gelen epididimozomlarda daha bol olduğunu bildirmiştir (Belleannee ve ark., 2013). Son araştırmalar, bu miRNA'ların DNA metilasyonu ve histon modifikasyonları gibi çok sayıda epigenetik değişikliğe karşı savunmasız olduğunu ve bunun da boğalarda farklılaşmış doğurganlığa katkıda bulunabileceğini göstermektedir. Sonuç olarak, yüksek verimli boğaların epididimozomlarında bu miRNA'ların tanımlanması doğurganlık tahmin testlerine yardımcı olabilir. Bu nedenle, epididimozomlar sperm kalitesini ve doğurganlığı artırmak için bir araç olarak kullanılabilir ve erkek fertilitesi ve üreme bozuklukları için yeni terapötik stratejiler geliştirmede umut verici bir rol oynayabilir.

Prostatdaki eksozomlar: Prostatosomlar

Prostatosomlar ilk olarak insan prostat sıvısında ve seminal plazmasında elektron mikroskopu kullanılarak görüntülenmiştir (Brody ve ark., 1983; Ronquist, 2012). Prostatosomların boyutu 30-500 nm arasında değişir. Prostat bezini kaplayan epitel hücrelerden prostat kanallarına salınan salgı mikrovezikülleridir. Prostat bezinde, MVB'ler epitel hücrelerinin plazma membranlarıyla kaynaştığında prostatosomlar prostat duktal sisteminin lümenine salınır.

Prostatosomlar hücrelerdeki endosomların içinde ve hücre dışı alanda (prostat kanalı ve seminal plazma) yerleşmiştir. Prostatosomların plazma zarı, 2:1 oranında kolesterol ve fosfolipit içeren çok katmanlıdır. Fosfolipidin yaklaşık %50'si çok sert zarlı sfingomiyelindir. Prostatosom zarının bu eşsiz bileşimi, prostatosomların diğer hücrelerle kaynaşmasına ve içeriklerini aynı hücrelere aktarmasına olanak tanır. Ejeküle semen, epididimal sperm ve seminal vezikül sıvısıyla karıştırılmış prostatosomlar içerir.

Prostatosomların sperm fonksiyonu üzerinde doğrudan etkisi vardır. Utleg ve ark. (2003) mikrokapiller HPLC-tandem kütle spektrometrisi tekniği kullanılarak prostatosomlardaki 139 proteinin profilini çıkarmıştır. Bu proteinlerin çoğunluğu (%33,8) enzimlerdir ve bunların %19'u taşıyıcı ve yapısal proteinlerdir (Utleg ve ark., 2003). Prostatosomlar, annexin I, II, IV, V, VII ve XI ile zenginleştirilmiştir ve membran trafiği ve füzyonu ile ilişkilidir (Haigler ve Christmas, 1990; Utleg ve ark., 2003). Sperm hareketliliği hücre içi pH ve kalsiyum (Ca²⁺) konsantrasyonundan etkilenir. Prostatosomlarda bulunan annexinler, sperm hücre içi Ca²⁺ seviyelerini artırmak için kalsiyum kanallarını düzenler ve böylece hareketlilik üzerinde olumlu etki gösterir (Utleg ve ark., 2003; Burden ve ark., 2006). Prostatosomlar ayrıca sperm-oosit etkileşimi için gerekli olan akrozom reaksiyonunun kapasitasyonunda ve indüksiyonunda önemli bir rol oynar. Kapasitasyon ve akrozom reaksiyonu, prostatosom füzyonu sırasında sperm plazma membranına aktarılan prostatosomal kolesterolün uzaklaştırılmasıyla aktive edilir (Kravets ve ark., 2000). Ekto-diadenozin polifosfat hidrolaz, sperm-prostatosom füzyonu sırasında prostatosomlardan sperm plazma membranına aktarılır ve akrozom reaksiyonunu düzenler (Minelli ve ark., 2002; Breitbart ve ark., 2005). Dişi üreme sistemine bırakılan sperm, galectin 3 ve CD48 gibi prostatosom tarafından aktarılan proteinler tarafından korunur (Tarazona ve ark., 2011). Bu proteinler, dişi üreme

sisteminde tamamlayıcı yol (Kitamura ve ark., 1995), lenfosit proliferasyonu (Kelly, 1995) ve fagositoz (Skibinski ve ark., 1992) gibi olayları düzenler.

Prostatosomlar, prostat hücrelerinden spermere üç yoldan bilgi taşıyabilir; doğrudan sperm plazma membranıyla temas ederek, iki membranı kaynaştırarak ve prostatosomları sperm hücrelerine içine alarak. Prostatosomların, sperm hücrelerinin mikroçevresindeki katyon konsantrasyonlarını (Ca²⁺ sinyali gibi) ele alarak sperm hareketliliğine katkıda bulunabileceği öne sürülmüştür (Ronquist, 2016). Bu veziküller, kolesterol transferi yoluyla erken kapasitasyonu engeller ve sperm hücreleri progesteronun etkisine karşı oldukça duyarlı hale getirerek akrozom reaksiyonunu uyarır. Yapılan bir çalışmada araştırmacılar, prostatosomlarda kapasitasyon sürecinde ve sperm hareketliliğinde önemli olabilecek Clusterin adlı bir protein tanımlamışlardır (Vickram ve ark., 2022). Proteazomlar, bağışıklık baskılayıcı özellikleri nedeniyle sperm hücreleri dışı bağışıklık sisteminden de korur ve dişi üreme yolunda hayatta kalmalarını sağlar (Kharazi ve Badalzadeh, 2020).

Yapılan bir çalışmada, sığır, köpek, at ve insan olmak üzere dört türden prostatosomların ATP oluşturabileceği rapor edilmiştir (Ronquist ve ark., 2013). Bunlar arasında, sığır prostatosomları en yüksek ATP üretim oranına ve ATPaz aktivitesine sahiptir. Ayrıca, köpek prostatosomları en düşük ATP üretim oranı ve ATPaz aktivitesi göstermiştir. Prostatosomların Karan Fries boğalarından alınan taze ve kriyoprezerve edilmiş çözölmüş sperm hücrelerinin fonksiyonel özellikleri üzerindeki etkisinin değerlendirildiği bir başka çalışma daha yapılmıştır (Kumar ve ark., 2019). Bu çalışmanın sonuçları sperm örneklerine prostatosom takviye edildiğinde, reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi azalırken diğer tüm işlevsel parametrelerde de iyileşmelerin olduğunu ortaya koymuştur.

Spermatogenezde Ekzosomların Rolü

Ekzosomların bileşimini ve işlevlerini anlamak, spermatogenez ve erkek üreme sağlığı üzerindeki rollerini açıklamak açısından çok önemlidir ve erkek fertilitésinin tanısı ve tedavisine ilişkin potansiyel öngörüler sunmaktadır. Yue ve ark. (2022) seminal plazmadaki ekzosomların spermatogenezin düzenlenmesinde rol oynayabilecek miRNA'lar içerdiğini bildirmiştir (Yue ve ark., 2022). Ekzosomlar, sertoli hücreleri, leydig hücreleri ve germ hücreleri dahil olmak üzere testisler içindeki farklı hücre popülasyonları arasında temel düzenleyici moleküllerin transferinde rol oynar. Bu etkileşimler, spermatogenezin düzgün bir şekilde ilerlemesi için gereken karmaşık sinyal ağlarını düzenlemede ekzosomların önemini ortaya koymaktadır.

Testis seminifer tübüllerinde üretilen sperm hücreleri epididimise girdiğinde fertil değildir. Ekzosomlar, sperm hücrelerinden çıkıp epididimise girdiğinde çok sayıda modifikasyon ve kazanıma aracılık ederler. İnsan, sığır ve fare modellerinde, epididimozomların yükü epididimal sıvıdan kaynaklanır, epididimal kauda ve kaput farklı yük yüklemesine sahiptir. Bir kedi modelinde, epididimal kaput, corpus ve cauda türevi

ekzosomal proteinler hareketlilik, zona pellusida bağlanması ve akrozom reaksiyonu ile ilişkilidir ve teratospermi ile ilişkilendirilmiştir (Rowlison ve ark., 2020).

Sperm adezyon molekülü 1 (SPAM1), glioma patogenezi ile ilişkili 1 benzeri protein 1 (GliPr1L1) ve metaloproteazlar döllenmede önemli roller oynar (Martin-DeLeon, 2006; Griffiths ve ark., 2008; Oh ve ark., 2009; Caballero ve ark., 2012). Proto-onkogen tirozin-protein kinaz Src (cSrc) ve makrofaj göç inhibitör faktörü (MIF), kapasitasyon ve hareketlilik üzerinde bir etkiye sahiptir (Eickhoff ve ark., 2004; Krapf ve ark., 2012). Liprin $\alpha 3$, spermin akrozom reaksiyonu geçirmesi için önemli bir bileşendir (Joshi ve ark., 2014). Ejakülât içindeki sperm henüz tam olarak işlevsel değildir ve önce kapasitasyona uğramalıdır ve prostasom, kapasitasyonu yönlendiren protein kinaz C aktivitesini uyararak için siklik adenosin monofosfat (cAMP) sağlayabilir (Fraser, 2010). Ayrıca, prostasom siklik adenosin difosfat ve Ca^{2+} sinyal moleküllerini sperme taşır (Park ve ark., 2011). Ca^{2+} 'nin hücre içi düzenlenmesi, akrozom reaksiyonu sırasında sperm hareketliliği ve oositlerle etkileşimi için kritik öneme sahiptir (Park ve ark., 2011; Alasmari ve ark., 2013). Sperm dışı genital sistemine girdiğinde, seminal sıvıdan türetilen ekzosomlar, hem sperme hem de gelişen konseptusa karşı maternal bağışıklık tepkisini sürekli olarak düzenler ve uyarlar (Tannetta ve ark., 2014).

Erkek İnfertilitesinde Eksozom Tedavisi

Kemoterapi veya radyasyon tedavisi gibi gonadotoksik tedaviler gören erkekler fertiliteleri üzerinde olumsuz bir etki yaşayabilir (Tran ve ark., 2022). Bu gibi durumlarda fertilitenin korunmasına yardımcı olacak çeşitli yaklaşımlar mevcuttur. Sperm kriyoprezervasyonu, erkek fertilitasını korumak için en yaygın ve etkili yöntemdir. Prepubertal erkek çocuklar veya ejaküle sperm üretemeyen erkekler için testis dokusu kriyoprezervasyonu bir seçenek olabilir. Bu, olgunlaşmamış sperm hücreleri içeren testis dokusunun çıkarılmasını ve dondurulmasını içerir. Dondurulmuş doku daha sonra çözülebilir ve testis dokusu nakli veya sperm hücrelerinin in vitro olgunlaşması gibi tekniklerle doğurganlığın restorasyonu için kullanılabilir (Goossens ve ark., 2020). Son yıllarda, testis dokusu aşılama (Pelzman ve ark., 2020), in vitro spermatogenez (Richer ve ark., 2020) ve kök hücre temelli yaklaşımlar (Sherif ve ark., 2018) gibi deneysel teknikler fertilitenin korunması veya geri kazanılması konusunda umut vaat etmektedir.

Erkek üreme sisteminin farklı bölümlerinde üretilen eksozomlar erkek üreme sistemi hastalıkları için biyobelirteç olarak hizmet edebilirler (Vickram ve ark., 2021). Hücreler arasında bilgi ileterek azospermi (semende sperm bulunmaması), varikosel (skrotumda yer alan damarların şişerek genişlemesi ve büyümesi) ve testis torsiyonu (testislerin kendi eksenini etrafında dönmesi sonucu kan akışının engellenmesi) gibi erkek infertilitesine neden olan durumlarda önemli bir rol oynamaktadırlar (Kotaja, 2014).

Sertoli Hücrelerinden Türetilen Ekzosomlar ve Leydig Hücreleri Üzerindeki Etkileri

Testiküler mikro çevre, sertoli kök hücrelerinin (SKH) kendini yenilemesini ve farklılaşmasını kontrol ederek erkek üreme sisteminin hayati süreçlerini yönetir (Oliver ve Stukenborg, 2020). Sertoli kök hücreleri, testisin seminifer tübülleri içinde gelişmekte olan germ hücrelerine destek ve beslenme sağlamaktadır. Spermatogenezin düzenlenmesinde hayati bir rol oynayan proteinler, hormonlar ve eksozomlar dahil olmak üzere çeşitli biyoaktif molekülleri salgırlar. Sertoli hücreleri arasında kan-testis bariyerinin varlığı fertilitte için gereklidir ve işlev bozukluğu infertiliteye yol açabilmektedir. Sertoli hücreler ve spermatojenik hücreler arasındaki etkileşim, spermatogenez teşvik etmek için kritik bir önem taşır (Ni ve ark., 2019).

Testis mikroçevresindeki sertoli hücreler ve diğer hücre tipleri arasında eksozomlar da dahil olmak üzere EV'lerin değişimi, spermatogenez desteklemek ve testis homeostazını korumak için gereklidir (Thiageswaran ve ark., 2022). Sertoli hücresi kaynaklı eksozomların spermatogenezdeki rolü, erkek fertilitesi ve üreme kapasitesinde yer alan mekanizmaların anlaşılmasında önemli bir ilgi alanıdır. Bu eksozomlar sertoli hücreler, sertoli kök hücreler ve leydig hücreleri arasındaki hücreler arası iletişimde önemli bir rol oynar ve hücreler arası iletişimin araçları olarak hareket eder. Ayrıca sertoli hücreler ile spermatogenezde yer alan diğer hücreler arasında bilgi alışverişini sağlar. Eksozomal iletişim yoluyla sertoli hücreler ve germ hücreleri arasındaki karşılıklı etkileşim, germ hücresi üretkenliğini ve gelişimini desteklemek için önemlidir. Sertoli hücresi kaynaklı eksozomların içeriği, spermatogonyal apoptozu inhibe ettiği ve böylece germ hücrelerinin hayatta kalmasını ve korunmasını teşvik ettiği bilinen mikroRNA'ları içerir (Gao ve ark., 2023). Bu eksozomların, Sertoli hücrelerden salınan ve bu hücrelerin işleviyle ilişkili olabilecek miR-210-3p gibi spesifik mikroRNA'ları taşıdığı bulunmuştur. Bu mikroRNA'lar, spermatogonyal apoptozun inhibe edilmesinde rol oynayarak spermatogenez desteklemedeki rollerini göstermektedir (Ma ve ark., 2021). Spermatogenez sinyal yollarında yer alan anahtar proteinlerin ve miRNA'ların belirlenmesi, erkek infertilitesi için tanıl ve rejeneratif hedefler sağlayabilir. Sertoli hücre bazlı eksozomların incelenmesi ve hücreler arası iletişimde rolleri, potansiyel terapötik uygulamalarına olan ilgiyi artırmıştır (Amiri ve ark., 2022; Aydos ve ark., 2023).

Yapılan araştırmalar, testis hücreleri arası iletişimde eksozomal miRNA'ların önemini ortaya koymaktadır. Li ve ark. (2021) tarafından yapılan bir çalışmada, miR-486-5p'nin sertoli hücrelerde ve sertoli hücre kaynaklı eksozomlarda zenginleştirildiği bulunmuştur. Bu eksozomlar miR-486-5p'yi Sertoli hücrelerden Sertoli kök hücrelere aktarır ve Stra8 (retinoik asit 8 tarafından uyarılır) ekspresyonunu upregüle ederek sertoli kök hücre farklılaşmasını teşvik eder. Bu bulgular miR-486-5p'nin sertoli hücreler ve sertoli kök hücreler arasında bir iletişim molekülü olarak görev yaptığını ve sertoli kök

hücre farklılaşmasının modüle edilmesinde rol oynadığını göstermektedir (Li ve ark., 2021).

Gao ve ark. (2023) tarafından yapılan bir araştırma, fare Sertoli hücrelerinden türetilen eksozomların primer spermatogonyada apoptozu inhibe etme yeteneğine sahip olduğunu ortaya koymaktadır. miRNA yüksek verimli dizileme yoluyla sertoli hücrelerinde 1016 miRNA ve eksozomlarda 556 miRNA tanımlanmıştır. Bunlar arasında 294 miRNA, sertoli hücreler ve eksozomlar arasında diferansiyel ekspresyon göstermiştir (Gao ve ark., 2023).

Wang ve ark. (2023) tarafından yapılan bir çalışmada, araştırmacılar miR-30a-5p içeren Sertoli hücrelerinden türetilmiş hücre dışı veziküllerin farelerde sertoli kök hücrelerin çoğalması ve farklılaşması üzerindeki düzenleyici etkilerini araştırmışlardır. Sertoli kök hücrelerin sertoli hücrelerinden türetilmiş hücre dışı veziküllerle muamelesi hücre çoğalmasını desteklemiştir (Wang ve ark., 2023). Salek ve ark. (2021) Sertoli türevi eksozomların elektromanyetik alanlara maruz kalan Sertoli kök hücreler üzerinde parakrin araçlar olarak terapötik etkilerini ve altta yatan mekanizmaları araştırmıştır. Sertoli kök hücreler belirli bir yoğunlukta elektromanyetik alanlara maruz bırakılmış ve prepubertal sertoli hücrelerden izole edilen eksozomlarla desteklenmiştir. Elektromanyetik alanlara maruziyetinin Sertoli kök hücreler üzerinde ROS birikimi, azalmış hücre canlılığı, azalmış kolonizasyon ve artmış apoptosis gibi zararlı etkilere yol açtığını bildirmişlerdir. Sertoli kaynaklı eksozomların uygulanması, oksidatif stresi düzenleyerek bu değişiklikler üzerinde iyileştirici bir etki göstermiştir. Bulgular, Sertoli kaynaklı eksozomların elektromanyetik alanlara maruz kalan Sertoli kök hücreler üzerinde olumlu bir etkiye sahip olduğunu ve elektromanyetik alanlara maruz kalmanın neden olduğu bozulmuş sertoli kök hücre mikroçevresini ve spermatogenezi eski haline getirmek için yeni bir terapötik ajan olarak hizmet edebileceğini göstermektedir (Salek ve ark., 2021).

Sertoli hücreleri testiste Leydig hücre fonksiyonlarının düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Son çalışmalar, eksozomların bu süreçte bir rolü olabileceğini öne sürmüştür. Liang ve ark. (2021), küçük bir RNA molekülü olan miR-145-5p'nin ekspresyonunun, olgunlaşmamış sertoli hücrelerinde en yüksek ekspresyon ile farklı aşamalarda sertoli hücreler arasında önemli ölçüde değiştiğini rapor etmiştir. Eksozomlar miR-145-5p'nin immatür Sertoli hücrelerden Leydig hücrelerine transferini kolaylaştırmıştır. Leydig hücrelerinde artan miR-145-5p seviyeleri, steroidojenik genlerin ekspresyonunun azalmasına ve testosteron sentezinin inhibe edilmesine neden olmuştur. miR-145-5p, steroidojenik faktör-1'in (Sf-1) ekspresyonunu doğrudan hedeflemiş ve aşağı regüle etmiş, bu da steroidojenik genlerin ekspresyonunu daha da baskılamış, lipid damlacık birikimine yol açmış ve testosteron üretimini engellemiştir. Elde ettikleri sonuçlar, Sertoli hücrelerden türetilen miR-145-5p'nin Leydig hücrelerinin işlevini kontrol etmedeki önemini açıkça ortaya koymaktadır (Liang ve ark., 2021).

Ma ve ark. (2022) Sertoli hücreler tarafından salınan eksozomların Leydig hücrelerinin hayatta kalmasını etkileyip etkilemeyeceğini araştırmışlardır. İn vitro deneyler, sıçan sertoli hücrelerinden gelen eksozomların Leydig hücreleri tarafından alındığını ve tedavi edilmemiş hücrelere kıyasla hayatta kalmalarını artırdığını göstermiştir. Eksozomların sıçan testislerine enjekte edildiği in vivo deneyler de Leydig hücreleri tarafından alındıklarını doğrulamıştır. Bulgular, Sertoli-Leydig hücre iletişimi hakkında yeni bilgiler sağlamak ve Sertoli hücreleri tarafından salınan eksozomların Leydig hücrelerinin hayatta kalmasını destekleyebileceğini düşündürmektedir. Genel olarak, Sertoli hücreleri kaynaklı eksozomlar Leydig hücre fonksiyonunu etkileme yeteneğini göstermiştir. Erkek üreme sağlığı alanında potansiyel terapötik uygulamaların önünü açabilecek olan eksozomlar ve Leydig hücreleri arasındaki çapraz iletişimde yer alan spesifik moleküler mekanizmaları aydınlatmak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır (Ma ve ark., 2022).

Sonuç

Eksozom alanındaki araştırmalar eksozomların erkek üreme sistemindeki önemini ortaya koymaktadır. Seminal eksozomlar, bileşenlerini spermata taşıyarak üremede önemli bir rol oynar. Spermata taşıyan ve hareketlilik, olgunlaşma ve sperm kapasitasyonu gibi çok sayıda fizyolojik sürece yardımcı olan proteinler, RNA'lar ve kimyasallardan oluşan bir kargo taşırlar.

Bu konudaki araştırmalar, spermatogenezi yöneten karmaşık mekanizmalara ışık tutmuş ve erkek infertilitesinin teşhisi ve tedavisi için yeni olasılıklar sunmuştur. Eksozomlar, testisler içindeki hücreler arası iletişimin önemli araçları olarak ortaya çıkmış ve farklı hücre popülasyonları arasında önemli bilgilerin değişimini kolaylaştırmıştır. Sertoli hücreleri kaynaklı eksozomlar, miRNA'lar da dahil olmak üzere biyoaktif molekülleri germ hücreleri gelişiminde yer alan alıcı hücrelere aktarma yetenekleri sayesinde spermatogenezin düzenlenmesinde çok önemli bir rol oynamaktadır. Bu eksozomların aracılık ettiği hücreler arası iletişim, kan testis bariyerinin korunmasına, germ hücreleri üretkenliğinin desteklenmesine ve önemli sinyal yollarının modülasyonuna katkıda bulunur. Bu bulgular, eksozomların infertilite problemlerini ele almada rejeneratif ajanlar olarak önemini ortaya koymaktadır ve üreme tıbbında eksozom tabanlı tedavilerin daha fazla araştırılması ve geliştirilmesinin önünü açmaktadır. Erkek fertilitesi araştırmalarının geleceği üreme sağlığını değerlendirmede ve fertilitate sonuçlarını iyileştirmek için etkili müdahaleler geliştirmede yenilikçi yaklaşımlar için umut vaat etmektedir. Sonuç olarak, bu gelişmeler üreme zorluklarıyla karşı karşıya kalan bireyler için yeni tedaviler sağlayarak erkek fertilitesi alanında devrim yaratma potansiyeline sahiptir.

Çıkar Çatışması Bildirimi

Yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Kaynaklar

- Aalberts, M., Stout, T. A., & Stoorvogel, W. (2013). Prostatosomes: extracellular vesicles from the prostate. *Reproduction* (Cambridge, England), 147(1), R1–R14. <https://doi.org/10.1530/REP-13-0358>
- Aalberts, M., Sostaric, E., Wubbolts, R., Wauben, M. W., Nolte-t Hoen, E. N., Gadella, B. M., Stout, T. A., & Stoorvogel, W. (2013). Spermatozoa recruit prostatosomes in response to capacitation induction. *Biochimica et biophysica acta*, 1834(11), 2326–2335. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2012.08.008>
- Admyre, C., Johansson, S. M., Qazi, K. R., Filén, J. J., Lahesmaa, R., Norman, M., Neve, E. P., Scheynius, A., & Gabrielsson, S. (2007). Exosomes with immune modulatory features are present in human breast milk. *Journal of immunology* (Baltimore, Md. : 1950), 179(3), 1969–1978. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.179.3.1969>
- Agarwal, A., Durairajanayagam, D., Halabi, J., Peng, J., & Vazquez-Levin, M. (2014). Proteomics, oxidative stress and male infertility. *Reproductive biomedicine online*, 29(1), 32–58. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2014.02.013>
- Ahmed, N., Yufei, H., Yang, P., Muhammad Yasir, W., Zhang, Q., Liu, T., Hong, C., Lisi, H., Xiaoya, C., & Chen, Q. (2016). Cytological study on Sertoli cells and their interactions with germ cells during annual reproductive cycle in turtle. *Ecology and evolution*, 6(12), 4050–4064. <https://doi.org/10.1002/ece3.2193>
- Airola, M. V., & Hannun, Y. A. (2013). Sphingolipid metabolism and neutral sphingomyelinases. *Handbook of experimental pharmacology*, (215), 57–76. https://doi.org/10.1007/978-3-7091-1368-4_3
- Alasmari, W., Costello, S., Correia, J., Oxenham, S. K., Morris, J., Fernandes, L., Ramalho-Santos, J., Kirkman-Brown, J., Michelangeli, F., Publicover, S., & Barratt, C. L. (2013). Ca²⁺ signals generated by CatSper and Ca²⁺ stores regulate different behaviors in human sperm. *The Journal of biological chemistry*, 288(9), 6248–6258. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.439356>
- Amiri, N., Mohammadi, P., Allahgholi, A., Salek, F., & Amini, E. (2023). The potential of sertoli cells (SCs) derived exosomes and its therapeutic efficacy in male reproductive disorders. *Life sciences*, 312, 121251. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2022.121251>
- Arienti, G., Carlini, E., Nicolucci, A., Cosmi, E. V., Santi, F., & Palmerini, C. A. (1999a). The motility of human spermatozoa as influenced by prostatosomes at various pH levels. *Biology of the Cell*, 91(1), 51–54.
- Aydos, O. S., Yukselten, Y., Ozkan, T., Ozkavukcu, S., Tuten Erdogan, M., Sunguroglu, A., & Aydos, K. (2023). Co-Culture of Cryopreserved Healthy Sertoli Cells with Testicular Tissue of Non-Obstructive Azoospermia (NOA) Patients in Culture Media Containing Follicle-Stimulating Hormone (FSH)/Testosterone Has No Advantage in Germ Cell Maturation. *Journal of Clinical Medicine*, 12(3), 1073. <https://doi.org/10.3390/jcm12031073>
- Baskaran, S., Selvam, M. K. P., & Agarwal, A. (2020). Exosomes of male reproduction. *Advances in clinical chemistry*, 95, 149–163. <https://doi.org/10.1016/bs.acc.2019.08.004>
- Bechoua, S., Rieu, I., Sion, B., & Grizard, G. (2011). Prostatosomes as potential modulators of tyrosine phosphorylation in human spermatozoa. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, 57(3), 139–148. <https://doi.org/10.3109/19396368.2010.549538>
- Belleannée, C., Calvo, É., Caballero, J., & Sullivan, R. (2013). Epididymosomes convey different repertoires of microRNAs throughout the bovine epididymis. *Biology of reproduction*, 89(2), 30. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.113.110486>
- Breitbart, H., Cohen, G., & Rubinstein, S. (2005). Role of actin cytoskeleton in mammalian sperm capacitation and the acrosome reaction. *Reproduction* (Cambridge, England), 129(3), 263–268. <https://doi.org/10.1530/rep.1.00269>
- Brody, I., Ronquist, G., & Gottfries, A. (1983). Ultrastructural localization of the prostatosome—an organelle in human seminal plasma. *Upsala journal of medical sciences*, 88(2), 63–80. <https://doi.org/10.3109/03009738309178440>
- Burden, H. P., Holmes, C. H., Persad, R., & Whittington, K. (2006). Prostatosomes—their effects on human male reproduction and fertility. *Human reproduction update*, 12(3), 283–292. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmi052>
- Caballero, J., Frenette, G., D'Amours, O., Belleannée, C., Lacroix-Pepin, N., Robert, C., & Sullivan, R. (2012). Bovine sperm raft membrane associated glioma pathogenesis-related 1-like protein 1 (GliPr1L1) is modified during the epididymal transit and is potentially involved in sperm binding to the zona pellucida. *Journal of cellular physiology*, 227(12), 3876–3886. <https://doi.org/10.1002/jcp.24099>
- Castro, B. M., Prieto, M., & Silva, L. C. (2014). Ceramide: a simple sphingolipid with unique biophysical properties. *Progress in lipid research*, 54, 53–67. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2014.01.004>
- Chabory, E., Damon, C., Lenoir, A., Kauselmann, G., Kern, H., Zevnik, B., Garrel, C., Saez, F., Cadet, R., Henry-Berger, J., Schoor, M., Gottwald, U., Habenicht, U., Drevet, J. R., & Vernet, P. (2009). Epididymis seleno-independent glutathione peroxidase 5 maintains sperm DNA integrity in mice. *The Journal of clinical investigation*, 119(7), 2074–2085. <https://doi.org/10.1172/JCI38940>
- Choy, K. H. K., Chan, S. Y., Lam, W., Jin, J., Zheng, T., Law, T. Y. S., Yu, S. S., Wang, W., Li, L., Xie, G., Yim, H. C. H., Chen, H., & Fok, E. K. L. (2022). The repertoire of testicular extracellular vesicle cargoes and their involvement in inter-compartmental communication associated with spermatogenesis. *BMC biology*, 20(1), 78. <https://doi.org/10.1186/s12915-022-01268-5>
- De Lazari, F. L., Sontag, E. R., Schneider, A., Moura, A. A. A., Vasconcelos, F. R., Nagano, C. S., Mattos, R. C., Jobim, M. I. M., & Bustamante-Filho, I. C. (2019). Seminal plasma proteins and their relationship with sperm motility and morphology in boars. *Andrologia*, 51(4), e13222. <https://doi.org/10.1111/and.13222>
- Ding, Y., Ding, N., Zhang, Y., Xie, S., Huang, M., Ding, X., Dong, W., Zhang, Q., & Jiang, L. (2021). MicroRNA-222 Transferred From Semen Extracellular Vesicles Inhibits Sperm Apoptosis by Targeting BCL2L1. *Frontiers in cell and developmental biology*, 9, 736864. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.736864>
- Drabovich, A. P., Saraon, P., Jarvi, K., & Diamandis, E. P. (2014). Seminal plasma as a diagnostic fluid for male reproductive system disorders. *Nature reviews. Urology*, 11(5), 278–288. <https://doi.org/10.1038/nrurol.2014.74>
- Du, J., Shen, J., Wang, Y., Pan, C., Pang, W., Diao, H., & Dong, W. (2016). Boar seminal plasma exosomes maintain sperm function by infiltrating into the sperm membrane. *Oncotarget*, 7(37), 58832–58847. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.11315>
- Duan, Y. G., Gong, J., Yeung, W. S. B., Haidl, G., & Allam, J. P. (2020). Natural killer and NKT cells in the male reproductive tract. *Journal of reproductive immunology*, 142, 103178. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2020.103178>
- Eickhoff, R., Baldauf, C., Koyro, H. W., Wennemuth, G., Suga, Y., Seitz, J., Henkel, R., & Meinhardt, A. (2004). Influence of macrophage migration inhibitory factor (MIF) on the zinc

- content and redox state of protein-bound sulphhydryl groups in rat sperm: indications for a new role of MIF in sperm maturation. *Molecular human reproduction*, 10(8), 605–611. <https://doi.org/10.1093/molehr/gah075>
- Esfandyari, S., Elkafas, H., Chugh, R. M., Park, H. S., Navarro, A., & Al-Hendy, A. (2021). Exosomes as biomarkers for female reproductive diseases diagnosis and therapy. *International journal of molecular sciences*, 22(4), 2165. <https://doi.org/10.3390/ijms22042165>
- Fraser L. R. (2010). The "switching on" of mammalian spermatozoa: molecular events involved in promotion and regulation of capacitation. *Molecular reproduction and development*, 77(3), 197–208. <https://doi.org/10.1002/mrd.21124>
- Frenette, G., Lessard, C., & Sullivan, R. (2002). Selected proteins of "prostasome-like particles" from epididymal cauda fluid are transferred to epididymal caput spermatozoa in bull. *Biology of reproduction*, 67(1), 308–313. <https://doi.org/10.1095/biolreprod67.1.308>
- Frenette, G., Légaré, C., Saez, F., & Sullivan, R. (2005). Macrophage migration inhibitory factor in the human epididymis and semen. *Molecular human reproduction*, 11(8), 575–582. <https://doi.org/10.1093/molehr/gah197>
- Frenette, G., Thabet, M., & Sullivan, R. (2006). Polyol pathway in human epididymis and semen. *Journal of andrology*, 27(2), 233–239. <https://doi.org/10.2164/jandrol.05108>
- Fornés, M. W., Barbieri, A., & Cavicchia, J. C. (1995). Morphological and enzymatic study of membrane-bound vesicles from the lumen of the rat epididymis. *Andrologia*, 27(1), 1–5. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.1995.tb02087.x>
- Gao, H., Cao, H., Li, Z., Li, L., Guo, Y., Chen, Y., Peng, G., Zeng, W., Du, J., Dong, W., & Yang, F. (2023). Exosome-derived Small RNAs in mouse Sertoli cells inhibit spermatogonial apoptosis. *Theriogenology*, 200, 155–167. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2023.02.011>
- Gilany K, Minai-Tehrani A, Savadi-Shiraz E, Rezadoost H, Lakpour N. Exploring the human seminal plasma proteome: an unexplored gold mine of biomarker for male infertility and male reproduction disorder. *J Reprod Infertil*. 2015 Apr-Jun;16(2):61-71.
- Griffiths, G. S., Miller, K. A., Galileo, D. S., & Martin-DeLeon, P. A. (2008). Murine SPAM1 is secreted by the estrous uterus and oviduct in a form that can bind to sperm during capacitation: acquisition enhances hyaluronic acid-binding ability and cumulus dispersal efficiency. *Reproduction (Cambridge, England)*, 135(3), 293–301. <https://doi.org/10.1530/REP-07-0340>
- Girouard, J., Frenette, G., & Sullivan, R. (2011). Comparative proteome and lipid profiles of bovine epididymosomes collected in the intraluminal compartment of the caput and cauda epididymidis. *International journal of andrology*, 34(5 Pt 2), e475–e486. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.2011.01203.x>
- Goossens, E., Jahnukainen, K., Mitchell, R. T., van Pelt, A., Pennings, G., Rives, N., Poels, J., Wyns, C., Lane, S., Rodriguez-Wallberg, K. A., Rives, A., Valli-Pulaski, H., Steimer, S., Kliesch, S., Braye, A., Andres, M. M., Medrano, J., Ramos, L., Kristensen, S. G., Andersen, C. Y., ... Stukenborg, J. B. (2020). Fertility preservation in boys: recent developments and new insights. *Human reproduction open*, 2020(3), hoaa016. <https://doi.org/10.1093/hropen/hoaa016>
- Gurunathan, S., Kang, M. H., & Kim, J. H. (2021). A Comprehensive Review on Factors Influencing Biogenesis, Functions, Therapeutic and Clinical Implications of Exosomes. *International journal of nanomedicine*, 16, 1281–1312. <https://doi.org/10.2147/IJN.S291956>
- Haigler, H. T., & Christmas, P. (1990). Annexin 1 is secreted by the human prostate. *Biochemical Society transactions*, 18(6), 1104–1106. <https://doi.org/10.1042/bst0181104>
- Houali, K., Wang, X., Shimizu, Y., Djennaoui, D., Nicholls, J., Fiorini, S., Bouguermouh, A., & Ooka, T. (2007). A new diagnostic marker for secreted Epstein-Barr virus encoded LMP1 and BARTF1 oncoproteins in the serum and saliva of patients with nasopharyngeal carcinoma. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 13(17), 4993–5000. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-06-2945>
- Ibtisham, F., Wu, J., Xiao, M., An, L., Banker, Z., Nawab, A., Zhao, Y., & Li, G. (2017). Progress and future prospect of in vitro spermatogenesis. *Oncotarget*, 8(39):66709–66727. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.19640>
- James, E. R., Carrell, D. T., Aston, K. I., Jenkins, T. G., Yeste, M., & Salas-Huetos, A. (2020). The Role of the Epididymis and the Contribution of Epididymosomes to Mammalian Reproduction. *International journal of molecular sciences*, 21(15), 5377. <https://doi.org/10.3390/ijms21155377>
- Jodar, M., Soler-Ventura, A., Oliva, R., & Molecular Biology of Reproduction and Development Research Group (2017). Semen proteomics and male infertility. *Journal of proteomics*, 162, 125–134. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2016.08.018>
- Johnson, M.H. (2018). Sperm and eggs. In *Essential Reproduction*, 8th ed.; Wiley Blackwell: Hoboken, NJ, USA, 183, 196.
- Joshi, C. S., Khan, S. A., & Khole, V. V. (2014). Regulation of acrosome reaction by Liprin $\alpha 3$, LAR and its ligands in mouse spermatozoa. *Andrology*, 2(2), 165–174. <https://doi.org/10.1111/j.2047-2927.2013.00167>
- Keller, S., Rupp, C., Stoeck, A., Runz, S., Fogel, M., Lugert, S., Hager, H. D., Abdel-Bakky, M. S., Gutwein, P., & Altevogt, P. (2007). CD24 is a marker of exosomes secreted into urine and amniotic fluid. *Kidney international*, 72(9), 1095–1102. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5002486>
- Kelly R. W. (1995). Immunosuppressive mechanisms in semen: implications for contraception. *Human reproduction (Oxford, England)*, 10(7), 1686–1693. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.humrep.a136156>
- Kharazi, U., & Badalzadeh, R. (2020). A review on the stem cell therapy and an introduction to exosomes as a new tool in reproductive medicine. *Reproductive biology*, 20(4), 447–459. <https://doi.org/10.1016/j.repbio.2020.07.002>
- Kirchhoff, C., & Hale, G. (1996). Cell-to-cell transfer of glycosylphosphatidylinositol-anchored membrane proteins during sperm maturation. *Molecular human reproduction*, 2(3), 177–184. <https://doi.org/10.1093/molehr/2.3.177>
- Kitamura, M., Namiki, M., Matsumiya, K., Tanaka, K., Matsumoto, M., Hara, T., Kiyohara, H., Okabe, M., Okuyama, A., & Seya, T. (1995). Membrane cofactor protein (CD46) in seminal plasma is a prostasome-bound form with complement regulatory activity and measles virus neutralizing activity. *Immunology*, 84(4), 626–632.
- Kotaja N. (2014). MicroRNAs and spermatogenesis. *Fertility and sterility*, 101(6), 1552–1562. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2014.04.025>
- Kowalczyk, A., Wrzecińska, M., Czerniawska-Piątkowska, E., & Kupczyński, R. (2022). Exosomes - Spectacular role in reproduction. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 148, 112752. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.112752>

- Krapf, D., Ruan, Y.C., Wertheimer, E.V., Battistone, M.A., Pawlak, J.B., Sanjay, A., Pilder, S.H., Cuasnicu, P., Breton, S., & Visconti, P.E. (2012). cSrc is necessary for epididymal development and is incorporated into sperm during epididymal transit. *Dev Biol.* 369(1):43-53. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2012.06.017>
- Kravets, F. G., Lee, J., Singh, B., Trocchia, A., Pentylala, S. N., & Khan, S. A. (2000). Prostatosomes: current concepts. *The Prostate*, 43(3), 169–174. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0045\(20000515\)43:3<169::aid-pros2>3.0.co;2-d](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0045(20000515)43:3<169::aid-pros2>3.0.co;2-d)
- Kumar, A., Pandita, S., Laxmi, N. A., Bhakat, M., & Mohanty, T. K. (2019). Effects of prostatosomes on functional parameters of fresh and cryopreservedthawed spermatozoa of crossbred Karan Fries (KF) bulls. *Indian Journal of Animal Research*, 53(9), 1167-1171. <https://doi.org/10.18805/ijar.B-3665>
- Lange-Consiglio, A., Capra, E., Monferrini, N., Canesi, S., Bosi, G., Cretich, M., Frigerio, R., Galbiati, V., Bertuzzo, F., Cobalchini, F., Cremonesi, F., & Gasparini, B. (2022). Extracellular vesicles from seminal plasma to improve fertilizing capacity of bulls. *Reproduction & fertility*, 3(4), 313–327. Advance online publication. <https://doi.org/10.1530/RAF-22-0037>
- Li, Q., Li, H., Liang, J., Mei, J., Cao, Z., Zhang, L., Luo, J., Tang, Y., Huang, R., Xia, H., Zhang, Q., Xiang, Q., Yang, Y., & Huang, Y. (2021). Sertoli cell-derived exosomal MicroRNA-486-5p regulates differentiation of spermatogonial stem cell through PTEN in mice. *Journal of cellular and molecular medicine*, 25(8), 3950–3962. <https://doi.org/10.1111/jcmm.16347>
- Liang, J., Li, H., Mei, J., Cao, Z., Tang, Y., Huang, R., Xia, H., Zhang, Q., Xiang, Q., Yang, Y., & Huang, Y. (2021). Sertoli cell-derived exosome-mediated transfer of miR-145-5p inhibits Leydig cell steroidogenesis by targeting steroidogenic factor 1. *Federation of american societies for experimental biology journal*, 35(6):e21660. <https://doi.org/10.1096/fj.202002589RRRR>
- Lin, Y., Liang, A., He, Y., Li, Z., Li, Z., Wang, G., & Sun, F. (2019). Proteomic analysis of seminal extracellular vesicle proteins involved in asthenozoospermia by iTRAQ. *Molecular reproduction and development*, 86(9), 1094–1105. <https://doi.org/10.1002/mrd.23224>
- Ma, Y., Zhou, Y., Xiao, Q., Zou, S. S., Zhu, Y. C., Ping, P., & Chen, X. F. (2021). Seminal exosomal miR-210-3p as a potential marker of Sertoli cell damage in Varicocele. *Andrology*, 9(1), 451–459. <https://doi.org/10.1111/andr.12913>
- Ma, Y., Zhou, Y., Zou, S. S., Sun, Y., & Chen, X. F. (2022). Exosomes released from Sertoli cells contribute to the survival of Leydig cells through CCL20 in rats. *Molecular human reproduction*, 28(2), gaac002. <https://doi.org/10.1093/molehr/gaac002>
- Machtinger, R., Laurent, L. C., & Baccarelli, A. A. (2016). Extracellular vesicles: roles in gamete maturation, fertilization and embryo implantation. *Human reproduction update*, 22(2), 182–193. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmv055>
- Martin-DeLeon P. A. (2006). Epididymal SPAM1 and its impact on sperm function. *Molecular and cellular endocrinology*, 250(1-2), 114–121. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2005.12.033>
- Mathivanan, S., Fahner, C. J., Reid, G. E., & Simpson, R. J. (2012). ExoCarta 2012: database of exosomal proteins, RNA and lipids. *Nucleic acids research*, 40(Database issue), D1241–D1244. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr828>
- Miksa, M., Wu, R., Dong, W., Komura, H., Amin, D., Ji, Y., Wang, Z., Wang, H., Ravikumar, T. S., Tracey, K. J., & Wang, P. (2009). Immature dendritic cell-derived exosomes rescue septic animals via milk fat globule epidermal growth factor-VIII [corrected]. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 183(9), 5983–5990. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0802994>
- Milardi, D., Grande, G., Vincenzoni, F., Messana, I., Pontecorvi, A., De Marinis, L., Castagnola, M., & Marana, R. (2012). Proteomic approach in the identification of fertility pattern in seminal plasma of fertile men. *Fertility and sterility*, 97(1), 67–73.e1. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2011.10.013>
- Minelli, A., Allegrucci, C., Liguori, L., & Ronquist, G. (2002). Ecto-dienosine polyphosphates hydrolase activity on human prostatosomes. *The Prostate*, 51(1), 1–9. <https://doi.org/10.1002/pros.10062>
- Murdiva, V., Giacomini, E., Alteri, A., Bartolacci, A., Cermisoni, G. C., Zarovni, N., Papaleo, E., Montorsi, F., Salonia, A., Viganò, P., & Vago, R. (2019). Seminal plasma of men with severe asthenozoospermia contain exosomes that affect spermatozoa motility and capacitation. *Fertility and sterility*, 111(5), 897–908.e2. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.01.030>
- Mobarak, H., Heidarpour, M., Lolicato, F., Nouri, M., Rahbarghazi, R., & Mahdipour, M. (2019). Physiological impact of extracellular vesicles on female reproductive system; highlights to possible restorative effects on female age-related fertility. *BioFactors (Oxford, England)*, 45(3), 293–303. <https://doi.org/10.1002/biof.1497>
- Mobarak, H., Heidarpour, M., Rahbarghazi, R., Nouri, M., & Mahdipour, M. (2021). Amniotic fluid-derived exosomes improved spermatogenesis in a rat model of azoospermia. *Life sciences*, 274, 119336. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119336>
- Neto, F. T., Bach, P. V., Najari, B. B., Li, P. S., & Goldstein, M. (2016). Spermatogenesis in humans and its affecting factors. *Seminars in cell & developmental biology*, 59, 10–26. <https://doi.org/10.1016/j.semcd.2016.04.009>
- Ni, F. D., Hao, S. L., & Yang, W. X. (2019). Multiple signaling pathways in Sertoli cells: recent findings in spermatogenesis. *Cell death & disease*, 10(8), 541. <https://doi.org/10.1038/s41419-019-1782-z>
- Nilsson, J., Skog, J., Nordstrand, A., Baranov, V., Mincheva-Nilsson, L., Breakefield, X. O., & Widmark, A. (2009). Prostate cancer-derived urine exosomes: a novel approach to biomarkers for prostate cancer. *British journal of cancer*, 100(10), 1603–1607. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6605058>
- Oh, J. S., Han, C., & Cho, C. (2009). ADAM7 is associated with epididymosomes and integrated into sperm plasma membrane. *Molecules and cells*, 28(5), 441–446. <https://doi.org/10.1007/s10059-009-0140-x>
- Oliver, E., & Stukenborg, J. B. (2020). Rebuilding the human testis in vitro. *Andrology*, 8(4), 825–834. <https://doi.org/10.1111/andr.12710>
- Park KH, Kim BJ, Kang J, Nam TS, Lim JM, Kim HT, Park JK, Kim YG, Chae SW, Kim UH. Ca²⁺ signaling tools acquired from prostatosomes are required for progesterone-induced sperm motility. *Sci Signal.* 2011 May 17;4(173):ra31.
- Patil, S. M., Sawant, S. S., & Kunda, N. K. (2020). Exosomes as drug delivery systems: A brief overview and progress update. *European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics : official journal of Arbeitsgemeinschaft fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V.* 154, 259–269. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2020.07.026>
- Paul, N., Talluri, T. R., Nag, P., & Kumaresan, A. (2021). Epididymosomes: A potential male fertility influencer.

- Andrologia, 53(9), e14155. <https://doi.org/10.1111/and.14155>
- Pelzman, D. L., Orwig, K. E., & Hwang, K. (2020). Progress in translational reproductive science: testicular tissue transplantation and in vitro spermatogenesis. *Fertility and sterility*, 113(3), 500–509. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.01.038>
- Perez-Hernandez, D., Gutiérrez-Vázquez, C., Jorge, I., López-Martín, S., Ursa, A., Sánchez-Madrid, F., Vázquez, J., & Yáñez-Mó, M. (2013). The intracellular interactome of tetraspanin-enriched microdomains reveals their function as sorting machineries toward exosomes. *The Journal of biological chemistry*, 288(17), 11649–11661. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.445304>
- Raposo, G., Nijman, H. W., Stoorvogel, W., Liejendekker, R., Harding, C. V., Melief, C. J., & Geuze, H. J. (1996). B lymphocytes secrete antigen-presenting vesicles. *The Journal of experimental medicine*, 183(3), 1161–1172. <https://doi.org/10.1084/jem.183.3.1161>
- Rejrapi, H., Vernet, P., & Drevet, J. R. (2002). GPX5 is present in the mouse caput and cauda epididymidis lumen at three different locations. *Molecular reproduction and development*, 63(1), 96–103. <https://doi.org/10.1002/mrd.10136>
- Richer, G., Baert, Y., & Goossens, E. (2020). In-vitro spermatogenesis through testis modelling: Toward the generation of testicular organoids. *Andrology*, 8(4), 879–891. <https://doi.org/10.1111/andr.12741>
- Ronquist G. (2012). Prostatomes are mediators of intercellular communication: from basic research to clinical implications. *Journal of internal medicine*, 271(4), 400–413. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.2011.02487.x>
- Ronquist, K. G., Ek, B., Morrell, J., Stavreus-Evers, A., Ström Holst, B., Humblot, P., Ronquist, G., & Larsson, A. (2013). Prostatomes from four different species are able to produce extracellular adenosine triphosphate (ATP). *Biochimica et biophysica acta*, 1830(10), 4604–4610. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2013.05.019>
- Ronquist, K. G., Sanchez, C., Dubois, L., Chioureas, D., Fonseca, P., Larsson, A., Ullén, A., Yachnin, J., Ronquist, G., & Panaretakis, T. (2016). Energy-requiring uptake of prostatomes and PC3 cell-derived exosomes into non-malignant and malignant cells. *Journal of extracellular vesicles*, 5, 29877. <https://doi.org/10.3402/jev.v5.29877>
- Rowlison, T., Cleland, T. P., Ottinger, M. A., & Comizzoli, P. (2020). Novel Proteomic Profiling of Epididymal Extracellular Vesicles in the Domestic Cat Reveals Proteins Related to Sequential Sperm Maturation with Differences Observed between Normospermic and Teratospermic Individuals. *Molecular & cellular proteomics : MCP*, 19(12), 2090–2104. <https://doi.org/10.1074/mcp.RA120.002251>
- Salek, F., Baharara, J., Shahrokhbadi, K. N., & Amini, E. (2021). The guardians of germ cells; Sertoli-derived exosomes against electromagnetic field-induced oxidative stress in mouse spermatogonial stem cells. *Theriogenology*, 173, 112–122. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2021.08.001>
- Samanta, L., Parida, R., Dias, T. R., & Agarwal, A. (2018). The enigmatic seminal plasma: a proteomics insight from ejaculation to fertilization. *Reproductive biology and endocrinology* : RB&E, 16(1), 41. <https://doi.org/10.1186/s12958-018-0358-6>
- Schlatt, S., & Ehmcke, J. (2014). Regulation of spermatogenesis: an evolutionary biologist's perspective. *Seminars in cell & developmental biology*, 29, 2–16. <https://doi.org/10.1016/j.semcd.2014.03.007>
- Sherif, I. O., Sabry, D., Abdel-Aziz, A., & Sarhan, O. M. (2018). The role of mesenchymal stem cells in chemotherapy-induced gonadotoxicity. *Stem cell research & therapy*, 9(1), 196. <https://doi.org/10.1186/s13287-018-0946-6>
- Sinha, D., Roy, S., Saha, P., Chatterjee, N., & Bishayee, A. (2021). Trends in Research on Exosomes in Cancer Progression and Anticancer Therapy. *Cancers*, 13(2), 326. <https://doi.org/10.3390/cancers13020326>
- Skibinski, G., Kelly, R. W., Harkiss, D., & James, K. (1992). Immunosuppression by human seminal plasma--extracellular organelles (prostatomes) modulate activity of phagocytic cells. *American journal of reproductive immunology (New York, N.Y. : 1989)*, 28(2), 97–103. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.1992.tb00767.x>
- Skryabin, G. O., Komelkov, A. V., Savelyeva, E. E., & Tchekvina, E. M. (2020). Lipid Rafts in Exosome Biogenesis. *Biochimica et Biophysica Acta*, 185(2), 177–191. <https://doi.org/10.1134/S0006297920020054>
- Sousa, C., Pereira, I., Santos, A. C., Carbone, C., Kovačević, A. B., Silva, A. M., & Souto, E. B. (2017). Targeting dendritic cells for the treatment of autoimmune disorders. *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*, 158, 237–248. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2017.06.050>
- Sullivan R. (2016). Epididymosomes: Role of extracellular microvesicles in sperm maturation. *Frontiers in bioscience (Scholar edition)*, 8(1), 106–114. <https://doi.org/10.2741/s450>
- Sullivan, R., & Saez, F. (2013). Epididymosomes, prostatomes, and liposomes: their roles in mammalian male reproductive physiology. *Reproduction (Cambridge, England)*, 146(1), R21–R35. <https://doi.org/10.1530/REP-13-0058>
- Sullivan, R., Saez, F., Girouard, J., & Frenette, G. (2005). Role of exosomes in sperm maturation during the transit along the male reproductive tract. *Blood cells, molecules & diseases*, 35(1), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2005.03.005>
- Sullivan, R., & Saez, F. (2013). Epididymosomes, prostatomes, and liposomes: their roles in mammalian male reproductive physiology. *Reproduction (Cambridge, England)*, 146(1), R21–R35. <https://doi.org/10.1530/REP-13-0058>
- Tamessar, C. T., Trigg, N. A., Nixon, B., Skerrett-Byrne, D. A., Sharkey, D. J., Robertson, S. A., Bromfield, E. G., & Schjenken, J. E. (2021). Roles of male reproductive tract extracellular vesicles in reproduction. *American journal of reproductive immunology (New York, N.Y. : 1989)*, 85(2), e13338. <https://doi.org/10.1111/aji.13338>
- Tannetta, D., Dragovic, R., Alyahyaei, Z., & Southcombe, J. (2014). Extracellular vesicles and reproduction-promotion of successful pregnancy. *Cellular & molecular immunology*, 11(6), 548–563. <https://doi.org/10.1038/cmi.2014.42>
- Tarazona, R., Delgado, E., Guarnizo, M. C., Roncero, R. G., Morgado, S., Sánchez-Correa, B., Gordillo, J. J., De Julián, J., & Casado, J. G. (2011). Human prostatomes express CD48 and interfere with NK cell function. *Immunobiology*, 216(1-2), 41–46. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2010.03.002>
- Thiageswaran, S., Steele, H., Voigt, A. L., & Dobrinski, I. (2022). A Role for Exchange of Extracellular Vesicles in Porcine Spermatogonial Co-Culture. *International journal of molecular sciences*, 23(9), 4535. <https://doi.org/10.3390/ijms23094535>
- Thimon, V., Frenette, G., Saez, F., Thabet, M., & Sullivan, R. (2008). Protein composition of human epididymosomes collected during surgical vasectomy reversal: a proteomic and genomic approach. *Human reproduction (Oxford, England)*, 23(8), 1698–1707. <https://doi.org/10.1093/humrep/den181>
- Tran, K. T. D., Valli-Pulaski, H., Colvin, A., & Orwig, K. E. (2022). Male fertility preservation and restoration strategies for

- patients undergoing gonadotoxic therapies†. *Biology of reproduction*, 107(2), 382–405. <https://doi.org/10.1093/biolre/iaoc072>
- Utleg, A. G., Yi, E. C., Xie, T., Shannon, P., White, J. T., Goodlett, D. R., Hood, L., & Lin, B. (2003). Proteomic analysis of human prostasomes. *The Prostate*, 56(2), 150–161. <https://doi.org/10.1002/pros.10255>
- Van den Boorn, J. G., Dassler, J., Coch, C., Schlee, M., & Hartmann, G. (2013). Exosomes as nucleic acid nanocarriers. *Advanced drug delivery reviews*, 65(3), 331–335. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.06.011>
- Vasan S. S. (2011). Semen analysis and sperm function tests: How much to test?. *Indian journal of urology : IJU : journal of the Urological Society of India*, 27(1), 41–48. <https://doi.org/10.4103/0970-1591.78424>
- Vernet, P., Aitken, R. J., & Drevet, J. R. (2004). Antioxidant strategies in the epididymis. *Molecular and cellular endocrinology*, 216(1-2), 31–39. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2003.10.069>
- Vickram, A. S., Srikumar, P. S., Srinivasan, S., Jeyanthi, P., Anbarasu, K., Thanigaivel, S., Nibedita, D., Jenila Rani, D., & Rohini, K. (2021). Seminal exosomes - An important biological marker for various disorders and syndrome in human reproduction. *Saudi journal of biological sciences*, 28(6), 3607–3615. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.03.038>
- Vickram, A. S., Anbarasu, K., Gulothungan, G., Thanigaivel, S., Nanmaran, R., & Palanivelu, J. (2022). Characterization of human prostasomes protein Clusterin (macromolecule) - a novel biomarker for male infertility diagnosis and prognosis. *Journal of biomolecular structure & dynamics*, 40(9), 3979–3988. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1852960>
- Vickram, A. S., Srikumar, P. S., Srinivasan, S., Jeyanthi, P., Anbarasu, K., Thanigaivel, S., Nibedita, D., Jenila Rani, D., & Rohini, K. (2021). Seminal exosomes - An important biological marker for various disorders and syndrome in human reproduction. *Saudi journal of biological sciences*, 28(6), 3607–3615. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.03.038>
- Vivacqua, A., Siciliano, L., Sabato, M., Palma, A., & Carpino, A. (2004). Prostasomes as zinc ligands in human seminal plasma. *International journal of andrology*, 27(1), 27–31. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.2004.00441.x>
- Wang, G. J., Liu, Y., Qin, A., Shah, S. V., Deng, Z. B., Xiang, X., Cheng, Z., Liu, C., Wang, J., Zhang, L., Grizzle, W. E., & Zhang, H. G. (2008). Thymus exosomes-like particles induce regulatory T cells. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 181(8), 5242–5248. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.181.8.5242>
- Wang, B., Zhai, C., Li, Y., Ma, B., Li, Z., & Wang, J. (2023). Sertoli cells-derived exosomal miR-30a-5p regulates ubiquitin E3 ligase Zeb2 to affect the spermatogonial stem cells proliferation and differentiation. *Reproductive toxicology (Elmsford, N.Y.)*, 117, 108340. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2023.108340>
- World Health Organization (WHO). *WHO Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Sperm-Cervical Mucus Interaction*, 4th ed.; Cambridge University Press: New York, NY, USA, 1999.
- Yellon, D. M., & Davidson, S. M. (2014). Exosomes: nanoparticles involved in cardioprotection?. *Circulation research*, 114(2), 325–332. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.113.300636>
- Zakharova, L., Svetlova, M., & Fomina, A. F. (2007). T cell exosomes induce cholesterol accumulation in human monocytes via phosphatidylserine receptor. *Journal of cellular physiology*, 212(1), 174–181. <https://doi.org/10.1002/jcp.21013>
- Quadri, Z., Elsherbini, A., & Bieberich, E. (2022). Extracellular vesicles in pharmacology: Novel approaches in diagnostics and therapy. *Pharmacological research*, 175, 105980. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2021.105980>
- Yang, C., Guo, W. B., Zhang, W. S., Bian, J., Yang, J. K., Zhou, Q. Z., Chen, M. K., Peng, W., Qi, T., Wang, C. Y., & Liu, C. D. (2017). Comprehensive proteomics analysis of exosomes derived from human seminal plasma. *Andrology*, 5(5), 1007–1015. <https://doi.org/10.1111/andr.12412>
- Yeung, C. H., Cooper, T. G., Schröter, S., Kirchhoff, C., & Nieschlag, E. (1998). Epididymal secretion of CD52 as measured in human seminal plasma by a fluorescence immunoassay. *Molecular human reproduction*, 4(5), 447–451. <https://doi.org/10.1093/molehr/4.5.447>
- Yu, K., Xiao, K., Sun, Q. Q., Liu, R. F., Huang, L. F., Zhang, P. F., Xu, H. Y., Lu, Y. Q., & Fu, Q. (2023). Comparative proteomic analysis of seminal plasma exosomes in buffalo with high and low sperm motility. *BMC genomics*, 24(1), 8. <https://doi.org/10.1186/s12864-022-09106-2>
- Yue, D., Yang, R., Xiong, C., & Yang, R. (2022). Functional prediction and profiling of exosomal circRNAs derived from seminal plasma for the diagnosis and treatment of oligoasthenospermia. *Experimental and therapeutic medicine*, 24(5), 649. <https://doi.org/10.3892/etm.2022.11586>