

Роль внеклеточных везикул семенной плазмы в стабилизации функций сперматозоидов

М.Ю. Гаврилов¹, Н.П. Макарова¹, А.С. Якимова², А.П. Калинин², Е.В. Кулакова¹

¹ ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова Минздрава России, Москва, Россия

² ФГАОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия

Резюме. Внеклеточные везикулы – это мембранные структуры клеточного происхождения, секретируемые различными типами клеток и желез во внешнюю и внутреннюю среду. Везикулы играют важную роль в коммуникации между клетками, участвуют во многих процессах, связанных с нормальным функционированием органов и тканей, часто являются маркерами патологических состояний. Внеклеточные везикулы были выделены практически из всех тканей, составляющих мужской репродуктивный тракт, но лучше всего они охарактеризованы в эпидидимисе и семенной жидкости. В общем смысле внеклеточные везикулы способствуют улучшению фертильности, поддерживая развитие и функционирование сперматозоидов, а также влияя на физиологию клеток женского репродуктивного тракта. Представленные в обзоре исследования позволяют расширить понимание о влиянии внеклеточных везикул на стабилизацию функций сперматозоидов и рассмотреть их как один из важнейших регуляторов мужской фертильности.

Ключевые слова: семенная плазма, внеклеточные везикулы, экзосомы, микровезикулы, эпидидимосомы, межклеточная коммуникация, вспомогательные репродуктивные технологии, сперматозоиды

Для корреспонденции: Наталья Петровна Макарова. E-mail: np_makarova@oparina4.ru

Для цитирования: Гаврилов М.Ю., Макарова Н.П., Якимова А.С., Калинин А.П., Кулакова Е.В. Роль внеклеточных везикул семенной плазмы в стабилизации функций сперматозоидов. Клини. экск. морфология. 2025;14(4):5–13. DOI: 10.31088/CEM2025.14.4.5-13.

Финансирование. Работа выполнена в рамках инициативного научного проекта «Изучение влияния внеклеточных везикул биологических жидкостей репродуктивных органов и тканей на гаметы, процесс оплодотворения и раннего эмбриогенеза человека и имплантации» (2025–2027) Национального медицинского исследовательского центра акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова.

Статья поступила 04.03.2025. Получена после рецензирования 20.03.2025. Принята в печать 12.05.2025.

The role of extracellular vesicles of seminal plasma in stabilizing sperm functions

M.Yu. Gavrilov¹, N.P. Makarova¹, A.S. Yakimova², A.P. Kalinin², E.V. Kulakova¹

¹ Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology, and Perinatology, Moscow, Russia

² Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Abstract. Extracellular vesicles are membrane structures of cellular origin secreted by various types of cells and glands into both external and internal environments. These vesicles play an important role in intercellular communication and many health- and disease-related processes. Although extracellular vesicles have been isolated from nearly all specialized tissues of the male reproductive tract, their composition and function are best characterized in the epididymis and seminal fluid. Extracellular vesicles enhance fertility by promoting cell sperm development and function as well as influencing cellular physiology in the female reproductive tract. This review synthesizes current evidence on the role of extracellular vesicles in stabilizing sperm function and highlights their significance as key regulators of male fertility.

Keywords: seminal plasma, extracellular vesicles, exosomes, microvesicles, epididymosomes, intercellular communication, assisted reproductive technologies, sperm

Corresponding author: Natalya P. Makarova. E-mail: np_makarova@oparina4.ru

For citation: Gavrilov M.Yu., Makarova N.P., Yakimova A.S., Kalinin A.P., Kulakova E.V. The role of extracellular vesicles of seminal plasma in stabilizing sperm functions. *Clin. exp. morphology*. 2025;14(4):5–13 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2025.14.4.5-13.

Funding. The work was carried out within the framework of the initiative scientific project “Study of the influence of extracellular vesicles from biological fluids of reproductive organs and tissues on gametes, the fertilization process, early human embryogenesis, and implantation” (2025–2027) of the V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology, and Perinatology.

Received 04.03.2025. **Received in revised form** 20.03.2025. **Accepted** 12.05.2025.

Введение

Семенная плазма (СП) представляет собой сложную смесь жидкостей, продуцируемых яичками, придатками яичек, семявыносящими протоками и в основном вспомогательными половыми железами. Она имеет гетерогенный состав, включающий множество биоактивных молекул, которые играют ключевую роль в регуляции основных функций сперматозоидов и влияют на функциональную активность клеток женских половых путей [1]. По сути, биоактивные молекулы СП необходимы для активации подвижности сперматозоидов, создания благоприятной иммунной среды в матке для продвижения спермы, а также для поддержки развития эмбриона и его имплантации [2]. В связи с этим поиск биомаркеров мужской фертильности среди биоактивных молекул СП является актуальным направлением исследований [3]. Эти молекулы могут либо свободно находиться в семенной плазме, либо быть заключены во внеклеточные везикулы, что защищает их от воздействия естественных ингибиторов, таких как протеазы и нуклеазы, присутствующих в СП [4, 5].

Внеклеточные везикулы (ВВ) – это наноразмерные пузырьки, окруженные липидным бислоем, диаметр которых обычно варьируется от 30 до 1000 нм. Они содержат разнообразные молекулы, такие как белки, нуклеиновые кислоты, метаболиты и липиды. Эти везикулы образуются большинством функциональных клеток организма и высвобождаются во внеклеточное пространство либо из многовезикулярных телец, происходящих из эндосом (малые ВВ), либо путем прямого «отпочковывания» от плазматической мембраны (большие ВВ). ВВ свободно перемещаются в биологических жидкостях и могут взаимодействовать с клетками-мишенями, находящимися как вблизи места их образования, так и на значительном расстоянии от него. После передачи своего содержимого они способны изменять функциональное поведение этих клеток. Таким образом, ВВ играют ключевую роль в межклеточной коммуникации и участвуют в различных патологических процессах, включая онкологические и иммунные заболевания, нейродегенеративные расстройства, а также в физиологических репродуктивных процессах, таких как оплодотворение, имплантация эмбриона и формирование плаценты [6]. Благодаря своей способности переносить биологически активные молекулы ВВ рассматриваются как перспективные неинвазивные биомаркеры для оценки множества

функций организма, в том числе патологических процессов [3, 6].

СП содержит значительно большее количество ВВ по сравнению с кровью или спинномозговой жидкостью. Несмотря на то, что ВВ СП были одними из первых везикул, выделенных и описанных в биологических жидкостях, они до сих пор остаются недостаточно изученными. Эти везикулы секретируются клетками яичка, придатка яичка, семявыносящего протока, а также мужских придаточных желез, таких как предстательная железа и семенные пузырьки. Как и ВВ в других биологических жидкостях, семенные ВВ представляют собой гетерогенную популяцию, отличающуюся по размеру, форме, электронной плотности и молекулярному составу. ВВ семенной плазмы взаимодействуют со зрелыми сперматозоидами и эпителиальными клетками эндометрия, обмениваясь с ними биологически активными молекулами, и тем самым участвуют в ключевых репродуктивных процессах [7]. В частности, они играют важную роль в регуляции подвижности сперматозоидов, их капацитации и акросомной реакции – процессах, необходимых для успешного оплодотворения. Кроме того, состав и содержание ВВ различаются у мужчин с нормозооспермией и у тех, у кого наблюдаются нарушения сперматогенеза [8]. Семенные ВВ также способствуют безопасному продвижению сперматозоидов по женским половым путям, модулируя иммунный ответ матки. В совокупности эти данные свидетельствуют о важной роли ВВ в регуляции фертильности человека. Тем не менее в настоящее время среди молекул, инкапсулированных в ВВ, нет однозначно признанных биомаркеров мужской фертильности. Целью данного обзора литературы было обобщение существующих опубликованных данных о влиянии ВВ СП на функциональные свойства сперматозоидов, особенно криотолерантность (стабильность мембраны клетки).

Характеристика внеклеточных везикул, выделяемых мужским репродуктивным трактом, и их значение для созревания гамет

Яички человека производят дифференцированные сперматозоиды, однако половым клеткам не хватает подвижности и фертильности. Сперматозоиды становятся полностью функциональными по мере прохождения через посттестикулярные сегменты мужской репродуктивной системы. ВВ, секретируемые мужским

репродуктивным трактом, включая эпидидимосомы и простасомы [9, 10], играют ключевую роль в процессе созревания сперматозоидов. Простасомы содержат хромогранин В, ответственный за бактерицидную активность и препятствующий распознаванию иммунными клеткам сперматозоидов в женском репродуктивном тракте. С другой стороны, после полового акта сперматозоиды попадают в разные сегменты женского репродуктивного тракта, продвигаясь из влагалища к месту оплодотворения. Во время прохождения внутри женского организма плазматическая мембрана мужских гамет претерпевает важные биохимические преобразования, вызывающие изменения поверхностных молекул. Данный процесс называется капациацией.

К настоящему времени установлено, что ВВ играют множество важных физиологических ролей в различных системах органов. При этом область, где наше понимание их функций остается недостаточным, является развитие и функционирование мужского репродуктивного тракта. В частности, малоизученным остается влияние ВВ на мембраны гамет.

Сперматогонии в яичке дифференцируются и созревают в сперматозоиды в семенных канальцах начиная с периода пубертата и на протяжении всей взрослой жизни. Когда сперматозоиды покидают яички и попадают в их придатки, они подвергаются дальнейшим важным изменениям. ВВ, выделяемые клетками придатка яичка и предстательной железы, активно взаимодействуют со сперматозоидами в процессе их продвижения по репродуктивному тракту. Эти везикулы передают сперматозоидам биологически активные молекулы, что приводит к многочисленным модификациям и улучшению их функциональных свойств, необходимых для оплодотворения [11].

Сейчас выделены три основных класса ВВ. Микровезикулы – ВВ диаметром от 100 до 1000 нм, которые высвобождаются путем «отпочковывания» от плазматической мембраны клетки [12]. Второй класс, апоптотические тельца, – это ВВ, возникающие из плазматической мембраны клеток в процессе запрограммированной гибели (апоптоза). Описано, что апоптотические тельца имеют диаметр 1–5 мкм [13]. Третий класс, экзосомы, образуются из мультивезикулярных телец и секретируются, когда эти тельца сливаются с плазматической мембраной. Экзосомы представляют собой пузырьки диаметром 30–150 нм [14]. Из трех видов внеклеточных везикул экзосомам уделяется наибольшее внимание. Эти ВВ действуют как сигнальные средства и участвуют в межклеточной коммуникации для поддержания гомеостаза клетки посредством переноса липидов, белков и нуклеиновых кислот [15, 16]. Когда ВВ прикрепляются к клетке-мишени, они могут быть усвоены клеткой-реципиентом или слиться с мембраной клетки-мишени для доставки своего содержимого, регулируя тем самым разные физиологические или патологические процессы в клетке-реципиенте [17].

Большинство внеклеточных везикул циркулирует по всему организму и обладает стандартным набором регуляторных компонентов, тогда как некоторые ВВ несут специфические биомаркеры, характерные для их клеточного источника или патологического состояния, что делает их ценными для диагностики и прогнозирования заболеваний, в частности мужского и женского бесплодия. Кроме того, ВВ, обладая способностью транспортировать биомолекулы и преодолевать ключевые биологические барьеры, представляют собой перспективные носители для клинической доставки лекарственных средств [18]. Однако в этой области по-прежнему остается множество технических и регуляторных вопросов, таких как иммуногенность экзогенных ВВ и сложности в выделении чистых эндогенных ВВ, которые необходимо решить. В этом отношении СП является уникальной биологической жидкостью, изучение которой может привести к прорыву в понимании такого многофакторного заболевания как мужское бесплодие [19]. Семенная плазма формируется за счет секретов яичек, придатка яичка, предстательной железы, семенных пузырьков, а также бульбоуретральных и периуретральных желез, что свидетельствует о том, что внеклеточные везикулы, присутствующие в семенной плазме, могут иметь происхождение из этих желез. ВВ спермы из придатка яичка и простаты известны как эпидидимосомы и простасомы, соответственно. Эти ВВ защищают сперматозоиды и регулируют их подвижность, морфологию и акросомную реакцию [20], тем самым положительно влияя на ключевые процессы, связанные с функциями сперматозоидов.

Яичко взрослого человека состоит из двух отдельных компонентов: семенных канальцев и интерстициального компартмента. После полового созревания семенные канальцы продуцируют сперматозоиды, а интерстициальный компартмент в основном отвечает за стероидогенез. Преимущественно семенные канальцы состоят из клеток Сертоли (суспендоцитов) и половых клеток. Клетки Сертоли располагаются на базальной мембране канальцев, при этом их цитоплазматические отростки находятся в просвете.

Суспендоциты являются ключевым компонентом ниши стволовых клеток зародышевой линии и обеспечивают структурную и функциональную поддержку для развития сперматозоидов. Кроме обеспечения физической поддержки клетки Сертоли выполняют ключевую функцию в регуляции функций других клеток за счет выделения разнообразных эндокринных, паракринных и аутокринных факторов. Прямые контакты между клетками, включая щелевые соединения, десмосомы и плотные соединения, обнаружены между клетками Сертоли и половыми клетками [21]. Щелевые соединения участвуют в межклеточной коммуникации путем обмена ионами и малыми молекулами. Десмосомы поддерживают контакты между половыми клетками и клетками Сертоли, предотвра-

шая отслоение незрелых сперматозоидов в просвет извитого семенного канальца. Плотные соединения между клетками Сертоли образуют межклеточные барьеры, которые разделяют пространство семенных канальцев на базальный (базальный слой) и адлюминальный (просвет) отделы. Эта цитологическая структура образует основу гематотестикулярного барьера, защищающего сперматозоиды от антигенов, антител, крупных молекул и иммунных клеток и поддерживающего микроокружение половых клеток, полностью отличающееся от микроокружения плазмы крови [22]. Семенной каналец человека окружен перитубулярными миоидными клетками, которые, как считается, обладают сократительной функцией. Эти клетки могут обеспечивать физическую поддержку сперматогенеза и играть роль в изгнании сперматозоидов из семенных канальцев в придаток яичка, они также оказывают влияние на дифференцировку или синтетические функции клеток Сертоли, сперматозоидов и клеток Лейдига, продуцируя многочисленные паракринные факторы (IGF1, LIF, TGF α , TGF β , GDNF, CSF1 и P-Mod-S) [23].

Придаток яичка (эпидидимис) представляет собой плотно свернутую трубку, расположенную на его поверхности. Через нее сперматозоиды перемещаются из семявыносящих канальцев в семявыносящий проток, где соединяются с выделительными протоками семенных пузырьков. Эпидидимис выполняет множество важных функций, включая хранение, созревание и транспортировку сперматозоидов к семявыносящему протоку, а также удаление аномальных или дефектных сперматозоидов. Этот процесс посттестикулярного созревания обеспечивает формирование однородной популяции сперматозоидов, способных к оплодотворению. Если сперматозоиды не проходят через эпидидимис и не подвергаются этим изменениям, они теряют способность оплодотворить яйцеклетку [24].

Многие функциональные изменения, происходящие со сперматозоидами в эпидидимисе, опосредованы секрецией различных молекул, которые выделяются его клетками. Значительная часть этих молекул транспортируется с помощью ВВ.

Эпидидимосомы, как и другие ВВ в репродуктивном тракте мужчины, отличаются высокой гетерогенностью и важны для развития и созревания сперматозоидов [25]. Показано, что секретируемые в придатке яичка ВВ переносят в сперматозоиды некоторые молекулы (CD52, GliPr1L1, MIF, P25b, P34h, ATP2B4, SPAM1, AKR1B1, SLC27A2, EDDM3B, KRT19 и WFDC8), которые участвуют в созревании сперматозоидов [26–28]. Груз в эпидидимосоме также защищает сперматозоиды от окислительного стресса (ELSPBP1, BLVRA, GPX5 и глутатион-S-трансфераза) и регулирует морфологию сперматозоидов и подвижность (ADAM7 и ATP2B4) [29, 30]. Эпидидимосомный груз (малые некодирующие РНК) также модулирует экспрессию генов в сперматозоидах и, таким образом,

влияет на эпигенетическую наследственность по отцовской линии [31].

В СП у человека был идентифицирован белок ELSPBP1, связывающийся со сперматозоидами и происходящий из эпидидимиса [25]. По своей структуре он сходен с семейством SBPs, содержащим четыре тандемно расположенные молекулы фибронектина 2-го типа. SBPs связываются со сперматозоидами после эякуляции и способствуют выполнению многочисленных функций, включая капацитацию и подвижность. Точная функция ELSPBP1 неясна, его присутствие в сперме является характеристикой сперматозоидов, погибших до эякуляции. ELSPBP1 также был обнаружен у быков с низкой фертильностью, а дальнейший анализ показал, что он присутствует только в нежизнеспособной фракции гамет. Экспрессия ELSPBP1 может быть использована для характеристики нежизнеспособных сперматозоидов в придатке яичка: его присутствие идентифицировано лишь в подгруппе мертвых сперматозоидов в проксимальном придатке яичка и во всех мертвых гаметах в его дистальном придатке. Это открытие позволяет предположить, что придаток яичка секретирует ELSPBP1, который затем поглощается сперматозоидами во время их прохождения через придаток. Считается, что наличие этого белка в мертвых гаметах может выполнять защитную функцию для живых сперматозоидов. FGL2 – другой эпидидимальный белок, связанный с гибнущими сперматозоидами, образует оболочку вокруг нежизнеспособных сперматозоидов, защищая жизнеспособные сперматозоиды от высвобождения вредных ферментов [25].

Молекулы, которые передаются между эпидидимосомой и сперматозоидами, включают такие важные компоненты, как связанный с патогенезом глиомы 1-подобный белок 1 (GliPr1L1), молекулу адгезии сперматозоидов 1 (SPAM1) и металлопротеазы. Все они играют важную роль в процессе оплодотворения. Кроме того, эпидидимосомы переносят к сперматозоидам другие белки, такие как протоонкогенная тирозин-протеинкиназа Src (cSrc) и фактор ингибирования миграции макрофагов (MIF), которые критически важны для капацитации и подвижности сперматозоидов. Некоторые из молекул, переносимых эпидидимосомой, хорошо изучены, но функции многих других до сих пор остаются не до конца определенными [32].

Доказательства, подтверждающие роль эпидидимосом в созревании сперматозоидов, можно получить, анализируя изменения морфологии и состава ВВ, которые выделяются из различных сегментов просвета придатка яичка, а также наблюдая за изменениями внутри самих сперматозоидов [33]. Эти изменения коррелируют с приобретением сперматозоидами ключевых функций, таких как подвижность и способность к оплодотворению яйцеклетки. Исследования показали, что в зависимости от области эпидидимиса ВВ связываются с разными частями сперматозоидов [10, 14].

Например, ВВ, которые препятствуют преждевременной миграции сперматозоидов, прикрепляются к их жгутику. В то же время молекулы, регулирующие связывание с блестящей оболочкой ооцита (например, белки P26h/P25b), транспортируются к плазматической мембране головки сперматозоида, покрытой акросомой.

Модификация РНК в сперматозоидах под воздействием внешних стимулов может изменять унаследованные от отца характеристики у потомства, такие как чувствительность к инсулину. В исследовании [34] определено, что отцовские экологические стрессоры передаются развивающимся сперматозоидам эпидидимальными ВВ, опосредуя посттестикулярные модификации мужских половых клеток. Это было дополнительно изучено на *in vitro* модели с использованием кортикостерона для имитации физиологического стресса, который изменил состав малых некодирующих РНК и белковые грузы ВВ. Инкубация этих ВВ со сперматозоидами и последующее оплодотворение методом интрацитоплазматической инъекции сперматозоида привели к транскриптомным изменениям как в ткани плаценты, так и в ткани мозга у развивающихся эмбрионов мыши.

Кроме ВВ эпидидимиса на стабилизацию функций мужских половых клеток существенно влияют ВВ предстательной железы (простасомы) – самого крупного из вспомогательных органов мужской репродуктивной системы, расположенного у основания мочевого пузыря. Жидкость, секретируемая клетками предстательной железы, составляет до одной шестой части эякулята, который затем смешивается с секретом семявыносящих протоков. Как и другие популяции ВВ, простасомы гетерогенны, их размер варьируется от 40 до 500 нм [35]. Их характеристика привела к идентификации на основе морфологии двух разных подгрупп; одна большая группа и одна меньшая, с более высокой электронной плотностью. Образование простасом, по-видимому, отличается от образования эпидидимосом. Их сборка была визуализирована в апикальной области клеток предстательной железы, где аппарат Гольджи наиболее распространен. Профиль размеров простасом очень похож на запасающие пузырьки в эпителии предстательной железы, что приводит к предположению, что эти пузырьки могут быть простасомами, которые еще предстоит высвободить. Дальнейшая визуализация выявила сходство между образованием пузырьков-накопителей в предстательной железе и мультивезикулярных телец, места образования ВВ в клетках [36]. Поверхностные маркеры простасом, хотя и полученные из клеточной линии рака предстательной железы (PC-3), обогащены мультивезикулярными тельцами и маркерами ВВ, включая субстрат тирозинкиназы, регулируемый фактор роста гепатоцитов (HGS), лизосомально-ассоциированный мембранный белок 1 и 2 (LAMP1 и LAMP2) и белок восприимчивости к опухоли (TSG101) [37]. Несмотря

на сходство между простасомами и запасающими пузырьками предстательной железы, до сих пор не показано, что накопительные пузырьки, наблюдаемые в предстательной железе, являются предшественниками простасом, высвобождающихся во внеклеточную среду [38].

Установлено, что простасомы при культивировании со сперматозоидами могут увеличивать подвижность мужских гамет (рецепторы прогестерона, компоненты сигнального каскада Ca^{2+} и аминопептидаза N) и защищать сперматозоиды от окислительного стресса (NOSs и ATP2B4) [39], а также от собственного иммунитета мужского организма, бактерий и агрессивной кислой среды в репродуктивном тракте женщины (РН, LGALS3 и CD48) [40, 41]. Груз в простасомах также может предотвращать преждевременную капацитацию и акросомную реакцию (холестерин) [42] и участвует в последующей индукции капацитации, гиперактивации сперматозоидов и акросомной реакции в момент оплодотворения (цАМФ, рецепторы прогестерона, гидролазы и липоксигеназы) [43].

Взаимодействие ВВ со сперматозоидами после эякуляции и перенос Ca^{2+} подчеркивают одну из ролей этих клеток в посттестикулярной модификации сперматозоидов. Мужские половые клетки, попавшие в женский репродуктивный тракт, хотя и являются морфологически зрелыми, все же должны пройти дальнейшую модификацию, чтобы приобрести потенциал для оплодотворения, то есть созреть функционально. Эти процессы в совокупности называются капацитацией. Неудивительно, что было выявлено несколько функций ВВ семенной плазмы, наиболее значимой из которых является их способность непосредственно сливаться со сперматозоидами.

Анализ состава ВВ семенной жидкости при сравнении пациентов с астенозооспермией и нормозооспермией выявил дифференциальную экспрессию белка TRPV6 [44]. TRPV6 является эпителиальным Ca^{2+} -каналом, регулирующим внутренний Ca^{2+} , и было показано, что нокаут гена *TRPV6* нарушает поглощение Ca^{2+} в эпидидимальном эпителии, что приводит к повышению внутреннего Ca^{2+} . В дополнение к нарушению регуляции Ca^{2+} падение уровня белка TRPV6 в ВВ семенной жидкости и сперматозоидах было связано с астенозооспермией и снижением способности к оплодотворению. Учитывая понимание важности регуляции Ca^{2+} для подвижности сперматозоидов, снижение уровня белка TRPV6 в ВВ и уменьшение ВВ-опосредованного переноса TRPV6 может играть важную роль в обеспечении подвижности развивающихся сперматозоидов.

Таким образом, можно говорить о важности изучения ВВ СП для лучшего понимания процессов созревания гамет, происходящих в репродуктивном тракте мужчины, и формирования условий *in vitro*, которые бы способствовали улучшению мужской фертильности в случаях бесплодия.

Взаимодействие внеклеточных везикул семенной плазмы со сперматозоидами в женском репродуктивном тракте

Взаимодействие сперматозоидов и ВВ семенной жидкости начинается только после эякуляции, поэтому большая часть их объединения и переноса веществ в сперматозоиды происходит в нижнем отделе женского репродуктивного тракта (влагалище, шейка матки). Эти взаимодействия зависят от pH: в кислой среде ВВ связываются со средней частью сперматозоида, а в нейтральной с его головкой [45]. Этот механизм связан с увеличением выживаемости сперматозоидов в нижнем отделе женских половых путей и позволяет им пройти через цервикальную слизь и преодолеть большое расстояние до фаллопиевых труб для оплодотворения яйцеклетки. Сперматозоиды в эякуляте еще не полностью функциональны и сначала должны пройти капацитацию. Большое количество протаминов в сперматозоидах, которые заменяют гистоны в процессе спермиогенеза, означает, что они не способны синтезировать белки и полагаются на взаимодействие с внешней средой для дальнейшей модификации, например с ВВ [45]. Капацитация сперматозоидов происходит под действием протеинкиназы С и зависит от цАМФ. Доставка цАМФ с помощью простасом приводит к повышению его уровня в сперматозоидах. Помимо цАМФ и грузов, необходимых для капацитации, ВВ транспортируют к сперматозоидам различные важные вещества, включая циклическую аденозиндифосфоррибозу и компоненты, участвующие в регуляции кальциевых каналов [46]. Помимо этого в научной литературе описано взаимодействие сперматозоидов с ВВ из женского репродуктивного тракта [14]. Флуоресцентно меченные ВВ, полученные из культивируемых клеток эндометрия в фазе пролиферации, продемонстрировали повышенное поглощение сперматозоидами по сравнению с их аналогами в фазе секреции. Также показано, что поглощение ВВ эндометрия секреторной фазы приводит к увеличению потенциала капацитации в сперматозоидах и, вероятно, отражает одно из многих динамических взаимодействий между мужской гаметой и женским репродуктивным трактом при подготовке к оплодотворению и последующей имплантации эмбриона [47].

Таким образом, можно с уверенностью говорить о том, что ВВ как СП, так и женского репродуктивного тракта существенно влияют на функции мужских половых клеток, приводя к модификациям мембраны, что отражается на основной функции сперматозоидов – участии в оплодотворении и последующем развитии эмбриона.

Влияние внеклеточных везикул семенной плазмы на криотолерантность сперматозоидов

Изучалось влияние экзосом и ВВ на криоконсервацию сперматозоидов, изменение функциональных

параметров, а также влияние концентрации белка в экзосомах и ВВ на жизнеспособность, морфологию и параметры подвижности гамет после размораживания [48]. Показатели жизнеспособности и морфологии сперматозоидов были значительно улучшены по сравнению с контрольным образцом при любых концентрациях внеклеточных везикул, а также увеличилась концентрация прогрессивно подвижных сперматозоидов. Обнаружено и влияние сокультивирования ВВ с мужскими гаметами на выработку активных форм кислорода, окисление липидов, улучшение мембранного потенциала митохондрий, уменьшение фрагментации ДНК [48].

В другом исследовании выявлено, что экзосомы, полученные из семенной плазмы человека, имели круглую морфологию с размерами, в основном варьирующими от 43 до 144 нм [49]. Электронная микроскопия экзосом показала, что протокол последовательного ультрацентрифугирования был эффективным для выделения ВВ из семенной плазмы человека, при этом посторонние белки не мешали визуализировать ВВ. Важно понимать, что при проведении экспериментальных работ крайне необходимо оценивать присутствие белковых агрегатов, поскольку они могут содержать белки, влияющие на ВВ при криоконсервации спермы. Было выявлено наличие экспрессии экзосомных маркеров тетраспанинов, таких как CD63, CD81 и CD9, тогда как экспрессия калнексина в экзосомах отсутствовала, что соответствует результатам вестерн-блоттинга, полученным в других исследованиях [50]. Предполагается, что экзосомы и внеклеточные везикулы могут служить так называемыми криопротекторами при добавлении в среды для замораживания сперматозоидов в лабораториях вспомогательных репродуктивных технологий. Однако механизм, с помощью которого они предотвращают повреждение спермы, связанное с понижением температуры и образованием ледяных кристаллов, остается неясным. Особенно актуальна тема добавления принципиально новых криопротекторов к половым клеткам для разработки технологий замораживания единичных сперматозоидов (выраженный фактор мужского бесплодия), когда выживание каждой гаметы крайне важно для дальнейшей реализации репродуктивной функции.

Заключение

Распознавание ключевого состава внеклеточных везикул и его влияния на функциональные характеристики сперматозоидов важно для понимания участия таких везикул в процессах капацитации, формирования фертильных сперматозоидов, акросомной реакции, оплодотворения и развития эмбриона. Это поможет не только понять фундаментальные механизмы формирования фертильной мужской половой клетки, но и разработать новые технологии, сохраняющие репродуктивный потенциал человека в программах лечения

бесплодия методами вспомогательных репродуктивных технологий.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

Литература/References

1. *Ovčar A, Kovačič B.* Biogenesis of extracellular vesicles (EVs) and the potential use of embryo-derived EVs in medically assisted reproduction. *Int J Mol Sci.* 2024;26(1):42. DOI: 10.3390/ijms26010042.
2. *Barranco I, Spinaci M, Nesci S, Mateo-Otero Y, Baldassarro VA, Algieri C et al.* Seminal extracellular vesicles alter porcine in vitro fertilization outcome by modulating sperm metabolism. *Theriogenology.* 2024;219:167–79. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2024.02.024.
3. *Zhang X, Liang M, Song D, Huang R, Chen C, Liu X et al.* Both protein and non-protein components in extracellular vesicles of human seminal plasma improve human sperm function via CatSper-mediated calcium signaling. *Hum Reprod.* 2024;39(4):658–73. DOI: 10.1093/humrep/deae018.
4. *Parra A, Padilla L, Lucas X, Rodriguez-Martinez H, Barranco I, Roca J.* Seminal extracellular vesicles and their involvement in male (in)fertility: a systematic review. *Int J Mol Sci.* 2023;24(5):4818. DOI: 10.3390/ijms24054818.
5. *Roca J, Rodriguez-Martinez H, Padilla L, Lucas X, Barranco I.* Extracellular vesicles in seminal fluid and effects on male reproduction. An overview in farm animals and pets. *Anim Reprod Sci.* 2022;246:106853. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2021.106853.
6. *Martínez-Díaz P, Parra A, Montesdeoca M, Barranco I, Roca J.* Updating research on extracellular vesicles of the male reproductive tract in farm animals: a systematic review. *Animals (Basel).* 2024;14(21):3135. DOI: 10.3390/ani14213135.
7. *Yáñez-Mó M, Siljander PR, Andreu Z, Zavec AB, Borràs FE, Buzas EI et al.* Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions. *J Extracell Vesicles.* 2015;4:27066. DOI: 10.3402/jev.v4.27066.
8. *Candenas L, Chianese R.* Exosome composition and seminal plasma proteome: a promising source of biomarkers of male infertility. *Int J Mol Sci.* 2020;21(19):7022. DOI: 10.3390/ijms21197022.
9. *Saez F, Frenette G, Sullivan R.* Epididymosomes and prostasomes: their roles in posttesticular maturation of the sperm cells. *J Androl.* 2003;24(2):149–54. DOI: 10.1002/j.1939-4640.2003.tb02653.x.
10. *Trigg NA, Eamens AL, Nixon B.* The contribution of epididymosomes to the sperm small RNA profile. *Reproduction.* 2019;157(6):R209–23. DOI: 10.1530/REP-18-0480.
11. *Rimmer MP, Gregory CD, Mitchell RT.* The transformative impact of extracellular vesicles on developing sperm. *Reprod Fertil.* 2021;2(3):R51–66. DOI: 10.1530/RAF-20-0076.
12. *van Niel G, D'Angelo G, Raposo G.* Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2018;19(4):213–28. DOI: 10.1038/nrm.2017.125.
13. *Park KH, Kim BJ, Kang J, Nam TS, Lim JM, Kim HT et al.* Ca²⁺ signaling tools acquired from prostasomes are required for progesterone-induced sperm motility. *Sci Signal.* 2011;4(173):ra31. DOI: 10.1126/scisignal.2001595.
14. *Sysoeva AP, Makarova NP, Silachev DN, Lobanova NN, Shevtsova YA, Bragina EE et al.* Influence of extracellular vesicles of the follicular fluid on morphofunctional characteristics of human sperm. *Bull Exp Biol Med.* 2021;172(2):254–62. DOI: 10.1007/s10517-021-05372-4.
15. *Gervasi MG, Visconti PE.* Molecular changes and signaling events occurring in spermatozoa during epididymal maturation. *Andrology.* 2017;5(2):204–18. DOI: 10.1111/andr.12320.
16. *Mathieu M, Martin-Jaular L, Lavieu G, Théry C.* Specificities of secretion and uptake of exosomes and other extracellular vesicles for cell-to-cell communication. *Nat Cell Biol.* 2019;21(1):9–17. DOI: 10.1038/s41556-018-0250-9.
17. *Raposo G, Stahl PD.* Extracellular vesicles: a new communication paradigm? *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2019;20(9):509–10. DOI: 10.1038/s41580-019-0158-7.
18. *Zhang G, Huang X, Xiu H, Sun Y, Chen J, Cheng G et al.* Extracellular vesicles: natural liver-accumulating drug delivery vehicles for the treatment of liver diseases. *J Extracell Vesicles.* 2020;10(2):e12030. DOI: 10.1002/jev2.12030.
19. *Poh QH, Rai A, Salamonsen LA, Greening DW.* Omics insights into extracellular vesicles in embryo implantation and their therapeutic utility. *Proteomics.* 2023;23(6):e2200107. DOI: 10.1002/pmic.202200107.
20. *Murdica V, Giacomini E, Alteri A, Bartolacci A, Cermisani GC, Zarovni N et al.* Seminal plasma of men with severe asthenozoospermia contain exosomes that affect spermatozoa motility and capacitation. *Fertil Steril.* 2019;111(5):897–908.e2. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2019.01.030.
21. *Mao B, Bu T, Mruk D, Li C, Sun F, Cheng CY.* Modulating the blood-testis barrier towards increasing drug delivery. *Trends Pharmacol Sci.* 2020;41(10):690–700. DOI: 10.1016/j.tips.2020.07.002.
22. *Potter SJ, DeFalco T.* Role of the testis interstitial compartment in spermatogonial stem cell function. *Reproduction.* 2017;153(4):R151–62. DOI: 10.1530/REP-16-0588.
23. *Mruk DD, Cheng CY.* The mammalian blood-testis barrier: its biology and regulation. *Endocr Rev.* 2015;36(5):564–91. DOI: 10.1210/er.2014-1101.
24. *Caballero J, Frenette G, Sullivan R.* Post testicular sperm maturational changes in the bull: important role of the epididymosomes and prostasomes. *Vet Med Int.* 2010;2011:757194. DOI: 10.4061/2011/757194.
25. *D'Amours O, Frenette G, Bordeleau LJ, Allard N, Leclerc P, Blondin P et al.* Epididymosomes transfer epididymal sperm binding protein 1 (ELSPBP1) to dead spermatozoa during epididymal transit in bovine. *Biol Reprod.* 2012;87(4):94. DOI: 10.1095/biolreprod.112.100990.
26. *Weigel Muñoz M, Cohen DJ, Da Ros VG, González SN, Rebagliati Cid A, Sulzyk V et al.* Physiological and pathological aspects of epididymal sperm maturation. *Mol Aspects Med.* 2024;100:101321. DOI: 10.1016/j.mam.2024.101321.
27. *Frenette G, Sullivan R.* Prostate-like particles are involved in the transfer of P25b from the bovine epididymal fluid to the sperm surface. *Mol Reprod Dev.* 2001;59(1):115–21. DOI: 10.1002/mrd.1013.

28. *Baskaran S, Panner Selvam MK, Agarwal A.* Exosomes of male reproduction. *Adv Clin Chem.* 2020;95:149–63. DOI: 10.1016/bs.acc.2019.08.004.
29. *Oh JS, Han C, Cho C.* ADAM7 is associated with epididymosomes and integrated into sperm plasma membrane. *Mol Cells.* 2009;28(5):441–6. DOI: 10.1007/s10059-009-0140-x.
30. *Choi H, Han C, Jin S, Kwon JT, Kim J, Jeong J et al.* Reduced fertility and altered epididymal and sperm integrity in mice lacking ADAM7. *Biol Reprod.* 2015;93(3):70. DOI: 10.1095/biolreprod.115.130252.
31. *Peng H, Shi J, Zhang Y, Zhang H, Liao S, Li W et al.* A novel class of tRNA-derived small RNAs extremely enriched in mature mouse sperm. *Cell Res.* 2012;22(11):1609–12. DOI: 10.1038/cr.2012.141.
32. *Plante G, Prud'homme B, Fan J, Lafleur M, Manjunath P.* Evolution and function of mammalian binder of sperm proteins. *Cell Tissue Res.* 2016;363(1):105–27. DOI: 10.1007/s00441-015-2289-2.
33. *Nixon B, De Iulius GN, Hart HM, Zhou W, Mathe A, Bernstein IR et al.* Proteomic profiling of mouse epididymosomes reveals their contributions to post-testicular sperm maturation. *Mol Cell Proteomics.* 2019;18(Suppl 1):S91–108. DOI: 10.1074/mcp.RA118.000946.
34. *Chan JC, Morgan CP, Adrian Leu N, Shetty A, Cisse YM, Nugent BM et al.* Reproductive tract extracellular vesicles are sufficient to transmit intergenerational stress and program neurodevelopment. *Nat Commun.* 2020;11(1):1499. DOI: 10.1038/s41467-020-15305-w.
35. *Sheibak N, Zandieh Z, Amjadi F, Aflatoonian R.* How sperm protects itself: a journey in the female reproductive system. *J Reprod Immunol.* 2024;163:104222. DOI: 10.1016/j.jri.2024.104222.
36. *Sahlén GE, Egevad L, Ahlander A, Norlén BJ, Ronquist G, Nilsson BO.* Ultrastructure of the secretion of prostasomes from benign and malignant epithelial cells in the prostate. *Prostate.* 2002;53(3):192–9. DOI: 10.1002/pros.10126.
37. *Llorente A, van Deurs B, Sandvig K.* Cholesterol regulates prostatesome release from secretory lysosomes in PC-3 human prostate cancer cells. *Eur J Cell Biol.* 2007;86(7):405–15. DOI: 10.1016/j.ejcb.2007.05.001.
38. *Tarazona R, Delgado E, Guarnizo MC, Roncero RG, Morgado S, Sánchez-Correa B et al.* Human prostasomes express CD48 and interfere with NK cell function. *Immunobiology.* 2011;216(1-2):41–6. DOI: 10.1016/j.imbio.2010.03.002.
39. *Murdica V, Giacomini E, Makieva S, Zarovni N, Candiani M, Salonia A et al.* In vitro cultured human endometrial cells release extracellular vesicles that can be uptaken by spermatozoa. *Sci Rep.* 2020;10(1):8856. DOI: 10.1038/s41598-020-65517-9.
40. *Bailey JL.* Factors regulating sperm capacitation. *Syst Biol Reprod Med.* 2010;56(5):334–48. DOI: 10.3109/19396368.2010.512377.
41. *Aalberts M, Sostaric E, Wubbolts R, Wauben MW, Nolte-’t Hoen EN, Gadella BM et al.* Spermatozoa recruit prostasomes in response to capacitation induction. *Biochim Biophys Acta.* 2013;1834(11):2326–35. DOI: 10.1016/j.bbapap.2012.08.008.
42. *Méar LO, Tsai PS, Tamessar CT, Schjenken JE, Nixon B.* Epididymosomes: composition and functions for sperm maturation. *Adv Anat Embryol Cell Biol.* 2024 Sep 24. Online ahead of print. DOI: 10.1007/102_2024_7.
43. *Lin Y, Liang A, He Y, Li Z, Li Z, Wang G et al.* Proteomic analysis of seminal extracellular vesicle proteins involved in asthenozoospermia by iTRAQ. *Mol Reprod Dev.* 2019;86(9):1094–105. DOI: 10.1002/mrd.23224.
44. *Weissgerber P, Kriebs U, Tsvilovskyy V, Olausson J, Kretz O, Stoerger C et al.* Excision of Trpv6 gene leads to severe defects in epididymal Ca²⁺ absorption and male fertility much like single D541A pore mutation. *J Biol Chem.* 2012;287(22):17930–41. DOI: 10.1074/jbc.M111.328286.
45. *Samanta L, Swain N, Ayaz A, Venugopal V, Agarwal A.* Post-translational modifications in sperm proteome: the chemistry of proteome diversifications in the pathophysiology of male factor infertility. *Biochim Biophys Acta.* 2016;1860(7):1450–65. DOI: 10.1016/j.bbagen.2016.04.001.
46. *Pons-Rejraji H, Artonne C, Sion B, Brugnol F, Canis M, Janny L et al.* Prostasomes: inhibitors of capacitation and modulators of cellular signalling in human sperm. *Int J Androl.* 2011;34(6 Pt 1):568–80. DOI: 10.1111/j.1365-2605.2010.01116.x.
47. *Tkach M, Théry C.* Communication by extracellular vesicles: where we are and where we need to go. *Cell.* 2016;164(6):1226–32. DOI: 10.1016/j.cell.2016.01.043.
48. *Mahdavinzhad F, Gilani MAS, Gharaei R, Ashrafnezhad Z, Valipour J, Nashtaei MS et al.* Protective roles of seminal plasma exosomes and microvesicles during human sperm cryopreservation. *Reprod Biomed Online.* 2022;45(2):341–53. DOI: 10.1016/j.rbmo.2022.03.033.
49. *Simon C, Greening DW, Bolumar D, Balaguer N, Salamonsen LA, Vilella F.* Extracellular vesicles in human reproduction in health and disease. *Endocr Rev.* 2018;39(3):292–332. DOI: 10.1210/er.2017-00229.
50. *Andrews RE, Galileo DS, Martin-DeLeon PA.* Plasma membrane Ca²⁺-ATPase 4: interaction with constitutive nitric oxide synthases in human sperm and prostasomes which carry Ca²⁺/CaM-dependent serine kinase. *Mol Hum Reprod.* 2015;21(11):832–43. DOI: 10.1093/molehr/gav049.

Информация об авторах

Максим Юрьевич Гаврилов – младший научный сотрудник отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова.

Наталья Петровна Макарова – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова.

Александра Сергеевна Якимова – магистр 2-го курса медико-биологического факультета РНИМУ им. Н.И. Пирогова.

Андрей Павлович Калинин – студент 4-го курса лечебного факультета РНИМУ им. Н.И. Пирогова.

Елена Владимировна Кулакова – доктор медицинских наук, старший научный сотрудник отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова.

Authors information

Maxim Yu. Gavrilov – Junior Researcher, B.V. Leonov Department of Assistive Technologies in Infertility Treatment, V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology, and Perinatology.

<https://orcid.org/0000-0001-6189-0287>

Natalya P. Makarova – Dr. Sci. (Biol.), Leading Researcher, B.V. Leonov Department of Assistive Technologies in Infertility Treatment, V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology, and Perinatology.

<https://orcid.org/0000-0003-1396-7272>

Alexandra S. Yakimova – 2nd-year Master's Student, Faculty of Biomedical Sciences, Pirogov Russian National Research Medical University.

<https://orcid.org/0009-0001-5913-2660>

Andrey P. Kalinin – 4th-year Student, Faculty of Medicine, Pirogov Russian National Research Medical University.

<https://orcid.org/0009-0007-4828-8962>

Elena V. Kulakova – Dr. Sci. (Med.), Senior Researcher, B.V. Leonov Department of Assistive Technologies in Infertility Treatment, V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology, and Perinatology.

<https://orcid.org/0000-0002-4433-4163>