

STRESZCZENIE

Pęcherzyk jajnikowy wraz z wypełniającym go płynem pęcherzykowym tworzy optymalne środowisko do wzrostu oraz dojrzewania oocytu. Płyn pęcherzykowy zawiera wiele aktywnych biologicznie cząsteczek, które regulują funkcje oocytu i komórek somatycznych pęcherzyka jajnikowego. Ostatnie doniesienia naukowe dowodzą obecności egzosomów w płynie pęcherzykowym ludzi i zwierząt. Te nanometrowe, kuliste struktury, otoczone dwuwarstwą lipidową niosą aktywny ładunek biologiczny w postaci białek, lipidów, cukrów oraz materiału genetycznego. Dzięki zdolności do biernej migracji w płynach ustrojowych, egzosomy przemieszczają się na znaczne odległości w organizmie i modulują funkcje komórek docelowych. Znaczenie egzosomów w pęcherzyku jajnikowym nie zostało wciąż do końca poznane. Dotychczasowe badania sugerują ich rolę komunikacyjną oraz wpływ na procesy fizjologiczne i patologiczne w jajniku. Badania nad egzosomami płynu pęcherzykowego dają możliwość dokładniejszego poznania procesów, w które są one zaangażowane w pęcherzyku jajnikowym. Ponadto potencjalne kliniczne zastosowanie egzosomów, np. w leczeniu i diagnostyce chorób żeńskiego układu rozrodczego, skłania naukowców do dalszych badań.

WPROWADZENIE

Płyn pęcherzykowy stanowi niezbędne mikrośrodowisko dla rozwijającego się oocytu. Zawiera on bogaty zestaw składników, które pełnią funkcję odżywczą oraz zapewniają komunikację pomiędzy komórkami pęcherzyka jajnikowego i kompleksem wzgórka jajonośnego z oocytem (COC, ang. *cumulus-oophorus complex*) [1]. W ostatnich latach w płynie pęcherzykowym zidentyfikowano kuliste nanostruktury otoczone dwuwarstwową błoną lipidową, nazywane egzosomami. Dzięki obecności bioaktywnych składników w swoim wnętrzu (białka, lipidy, materiał genetyczny) oraz zdolności do krążenia w płynach ustrojowych, pełnią one głównie funkcję komunikacyjną i są odpowiedzialne za przekazywanie informacji między różnymi typami komórek. Mogą one także wbudowywać się w zespoły komórek modulując przy tym ich funkcje, zarówno w procesach fizjologicznych i patologicznych [2]. Ogromny potencjał egzosomów w aspekcie biologicznym, diagnostycznym i terapeutycznym skłania naukowców do nieustannych badań nad tymi strukturami. Jest to dość utrudnione ze względu na ich mały rozmiar oraz brak optymalnej metody izolacji [3]. Na przełomie ostatnich kilku lat egzosomy zidentyfikowano w płynie pęcherzykowym ludzi i innych ssaków [4]. Potwierdzenie ich obecności w pęcherzykach jajnikowych oraz analiza przeniesionego przez nie ładunku molekularnego może mieć znaczenie dla głębszego poznania mechanizmów regulujących funkcje pęcherzyka jajnikowego.

BUDOWA PĘCZERZYKA JAJNIKOWEGO

Pęcherzyki jajnikowe, powstające i dojrzewające w jajniku w procesie folikulogenezy, stanowią rezerwuuar rozrodczy samicy. Ich głównym zadaniem jest produkcja komórek jajowych zdolnych do zapłodnienia. Rozwój pęcherzyków rozpoczyna się od stadium pęcherzyka pierwotnego, który następnie przekształca się w pęcherzyk pierwszo-, drugo- i trzeciorzędowy, kończąc dojrzewanie na etapie pęcherzyka przedowulacyjnego (pęcherzyka Graafa). Od momentu wejścia w stadium trzeciorzędowe, pęcherzyki jajnikowe nazywamy antralnymi, ze względu na obecność w nich jamki (antrum) wypełnionej płynem pęcherzykowym. Płyn ten stanowi niezbędne środowisko odżywcze dla znajdującego się wewnątrz oocytu [5]. Najbardziej zewnętrzną warstwę pęcherzyka antralnego stanowi osłonka zewnętrzna, zbudowana z komórek mięśni gładkich, fibroblastów, włókien kolagenowych i naczyń krwionośnych. Kolejną warstwę tworzy osłonka wewnętrzna, która oprócz komórek steroidogennych zawiera także komórki zrębu łącznotkankowego i naczynia krwionośne. Dalej usytuowana jest błona podstawna, będąca barierą między krwią a wnętrzem pęcherzyka. Gra-

Katarzyna Popiołek¹,

Małgorzata Grzesiak²✉

¹Katedra Fizjologii i Endokrynologii Zwierząt, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Kraków

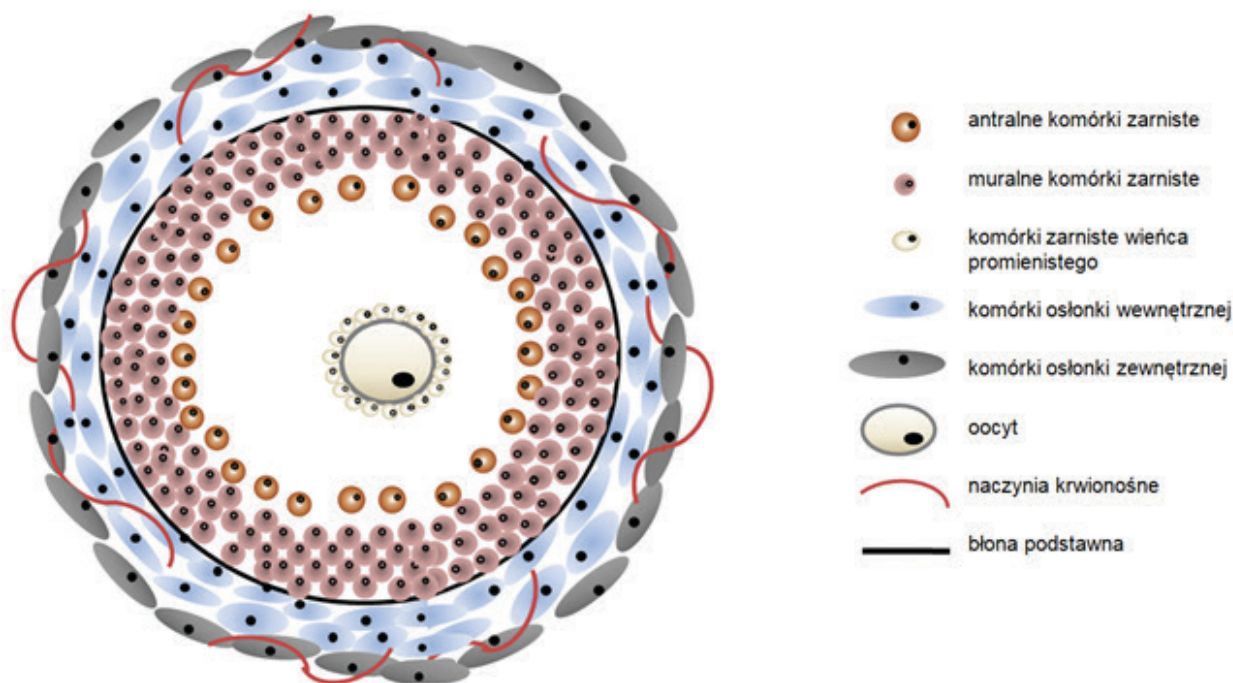
²Zakład Endokrynologii, Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych, Wydział Biologii, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie, Kraków

https://doi.org/10.18388/pb.2019_276

✉ autor korespondujący: m.e.grzesiak@uj.edu.pl

Słowa kluczowe: egzosomy, pęcherzyki zewnątrzkomórkowe, płyn pęcherzykowy, pęcherzyk jajnikowy

Wykaz skrótów: ALG-2 (ang. *apoptosis-linked gene-2 product*) – białko związane z apoptozą, eEF1 (ang. *eucaryotic elongation factor-1*) – eukariotyczny czynnik-1 elongacji translacji, eIF4 (ang. *eucaryotic initiation factor-4*) – eukariotyczny czynnik-4 inicjacji translacji, ESCRT (ang. *endosomal sorting complex required for transport*) – endosomalny kompleks sortujący, MFGE8 (ang. *milk fat globule EGF/factor VIII*) – laktadheryna, PI3K (ang. *phosphoinositide 3-kinase*) – kinaza fosfatydyloinozytolu, SNARE (ang. *soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptor*) – rodzina białek SNARE, TPxII (ang. *thioredoxin peroxidase II*) – peroksydaza II tioredoksyny, TSAP6 (ang. *protein tumor suppressor-activated pathway 6*) – białko supresorowe nowotworu, TSG101 (ang. *tumor susceptibility gene 101 product*) – produkt genu TSG101



Rycina 1. Budowa antralnego pęcherzyka jajnikowego ssaków. Opis w tekście.

niczy ona z awaskularną warstwą komórek ziarnistych, wśród których wyróżnia się komórki muralne, wsparte na błonie podstawnej oraz komórki antralne, otaczające jamkę pęcherzyka. Pierwsze z nich mają kolumnowaty kształt i wykazują większą aktywność steroidogenną. Drugie są bardziej kuliste i luźniej ułożone. Jako osobną populację komórek ziarnistych, wyodrębnia się komórki wieńca promienistego, które otaczają oocyt i tworzą wzgórek jajonośny [5] (Ryc. 1).

W pęcherzyku jajnikowym dochodzi do ciągłej, dwukierunkowej wymiany molekuł między oocytem a komórkami somatycznymi. Wzajemna interakcja jest uwarunkowana lokalną produkcją hormonów, czynników wzrostu oraz innych cząsteczek aktywnych biologicznie, które działają na drodze auto- lub parakrynowej [4]. Wśród czynników uwalnianych przez oocyt najważniejszymi są białko morfogenetyczne kości 15 (BMP15, ang. *bone morphogenetic protein 15*) oraz czynnik wzrostu i różnicowania 9 (GDF9, ang. *growth differentiation factor 9*), które wpływają na proliferację i różnicowanie komórek ziarnistych. Natomiast w przeciwnym kierunku wydzielane są m.in. Kit ligand i nablonkowe czynniki wzrostu odpowiadające za dojrzewanie oocytu [4]. Bardzo ważnym elementem komunikacji pomiędzy komórkami ziarnistymi oraz pomiędzy oocytem i komórkami ziarnistymi są połączenia szczelinowe (ang. *gap junctions*). Zapewniają one przenoszenie sygnału elektrycznego, przepływ nieorganicznych jonów, wtórnych przekaźników i innych cząsteczek rozpuszczalnych w wodzie o masie poniżej 1,0 kDa. Zbudowane są z białek zwanych koneksynami (Cx, ang. *connexin*), które łączą się w kompleksy i tworzą kanały przezkomórkowe. Pomiedzy komórkami ziarnistymi występują głównie Cx43 i Cx45, natomiast w komunikacji pomiędzy oocytem, a komórkami wieńca promienistego pośredniczą Cx37 i Cx43 [6]. Za nowy element komunikacji

wewnątrz pęcherzyka jajnikowego uważa się obecnie egzosomy, które są uwalniane do płynu pęcherzykowego i transportują molekuly regulujące ekspresję genów w oocyście [4].

PŁYN PĘCHERZYKOWY - FORMOWANIE, SKŁAD I FUNKCJA

Etap powstawania płynu pęcherzykowego rozpoczyna się już w późnych pęcherzykach drugorzędowych. Dochodzi wówczas do rozluźniania i reorganizacji dotychczas zwartej warstwy komórek ziarnistych oraz powstawania szczelin, które następnie łączą się ze sobą tworząc jamkę [7]. Powstała jamka wypełniona jest płynem pęcherzykowym będącym efektem dyfuzji substancji z naczyń krwionośnych znajdujących się w osłonce pęcherzyka, a także zawierającym składniki produkowane przez komórki ziarniste, komórki osłonki wewnętrznej oraz oocyt [8,9]. Istnieje hipoteza zakładająca, że akumulacja płynu pęcherzykowego zależy od utworzenia gradientu osmotycznego, który powoduje przemieszczanie się substancji z osocza do wnętrza pęcherzyka. Powstawanie gradientu jest możliwe dzięki substancjom produkowanym przez komórki ziarniste – hialuronianowi i siarczanowi chondroityny (wersikan). Transfer ten może przebiegać w dwojaki sposób – międzykomórkowo oraz przezkomórkowo. W pierwszym przypadku przesącz z osocza przedostaje się pomiędzy komórkami śródbłonka naczyń krwionośnych oraz pomiędzy komórkami ziarnistymi do wnętrza pęcherzyka. Drugi mechanizm angażuje białka budujące kanały wodne, czyli akwaporyny (AQP, ang. *aquaporin*) lub procesy transcytozy (transport substancji przez cytoplazmę komórki z jednego jej bieguna na drugi) [10]. Badania przeprowadzone na ludzkich, mysich oraz sznurzych pęcherzykach jajnikowych dowiodły obecności akwaporyn różnych klas (AQP 1-4, 7-9) w komórkach ziarnistych. Ponadto Starowicz i in. [11] wykazali obecność

AQP5 w błonie oocytów przedantralnych i antralnych pęcherzyków jajnikowych szczurów. Jej ekspresja w przedantralnych pęcherzykach jajnikowych oraz zanik w pęcherzykach owulacyjnych może wskazywać, że przyczynia się ona do magazynowania wody w antrum.

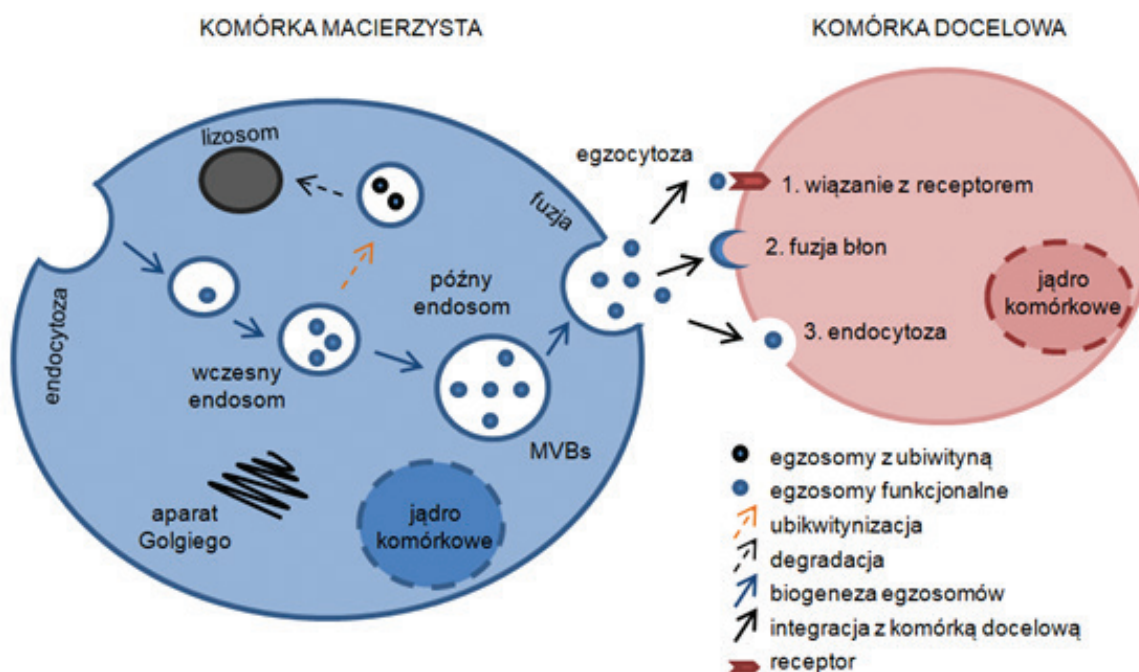
Płyn pęcherzykowy stanowi niezwykle ważne mikrośrodowisko dla rozwijającego się oocytu, zapewniające dostęp do niezbędnych substancji odżywczych. Jednymi z najważniejszych składników płynu są hormony m.in.: hormon folikulotropowy (FSH, ang. *follicle-stimulating hormone*), luteinizujący (LH, ang. *luteinizing hormone*) oraz gonadotropina kosmówkowa (hCG, ang. *human chorionic gonadotropin*). Wpływają one na wydzielanie różnych substancji przez komórki ziarniste (np. kwasu hialuronowego), które oddziałują na oocyt. Oprócz gonadotropin w płynie pęcherzykowym znajduje się hormon wzrostu, progesteron, estradiol, prolaktyna, gonadoliberyna, a także androgeny i kortykosteroidy [12]. Płyn pęcherzykowy to również zestaw wielu czynników wzrostu m.in.: nabłonkowego czynnika wzrostu (EGF, ang. *epidermal growth factor*), EGF-podobnego czynnika wzrostu, transformującego czynnika wzrostu α oraz β (TGF- α , β , ang. *transforming growth factor*), insulinopodobnego czynnika wzrostu (IGF, ang. *insulin-like growth factor*), inhibiny oraz aktywiny [12,13]. Ponadto w skład płynu pęcherzykowego wchodzi czynniki apoptotyczne tj. Fas-ligand, którego kompleks z rozpuszczalnym czynnikiem Fas (sFas-FasL) może zapobiegać atrezji oocytów [14]. Płyn pęcherzykowy zawiera również białka w postaci cytokin, enzymów, antykoagulantów, a także aminokwasowych metabolitów. Warto wspomnieć o żelatynazach posiadających aktywność enzymatyczną, które są zaangażowane w przebudowę tkanki podczas atrezji pęcherzyków. Ponadto ważną funkcję pełnią reaktywne formy tlenu obecne w płynie pęcherzykowym, np. tlenek azotu, który może działać indukująco lub hamująco na apoptozę komórek pęcherzyka

jajnikowego [14]. Płyn pęcherzykowy bogaty jest również we frakcję polisacharydów – hialuronian i mioinozitol oraz w lipidowe metabolity wspomagające różnicowanie się oocytu [15].

Skład płynu pęcherzykowego jest dosyć różnorodny i zależy od etapu rozwoju pęcherzyka. Dla przykładu, we wzrastającym pęcherzyku antralnym zwiększa się poziom estrogenów, natomiast maleje stężenie heparanosiarczanu oraz siarczanu chondroityny [5]. Ponadto wiele składników płynu pęcherzykowego jest wykorzystywanych jako wskaźniki dojrzałości oocytów oraz ich gotowości do owulacji i zapłodnienia [14]. Równie interesującym elementem zidentyfikowanym w płynie pęcherzykowym zarówno ludzi jak i zwierząt są obłonione, kuliste nanostruktury przenoszące aktywny materiał biologiczny, czyli egzosomy. Mimo tego, że do niedawna uważane były za komórkowe odpady (ang. *cell debris*), obecnie są szeroko opisywane w literaturze. Potencjalne znaczenie egzosomów w funkcjonowaniu pęcherzyka jajnikowego sprawia, że stanowią one interesujący obiekt do badań naukowych [16].

EGZOSOMY - KLASYFIKACJA, BIOGENEZA I CHARAKTERYSTYKA

Pęcherzyki zewnątrzkomórkowe (EVs, ang. *extracellular vesicles*) to grupa struktur biologicznych uwalnianych do macierzy zewnątrzkomórkowej z powierzchni błon większości komórek ssaków. Dzięki zdolności do przenoszenia zestawu funkcjonalnych cząsteczek na duże odległości oraz do integracji z komórkami docelowymi, mogą uczestniczyć zarówno w procesach fizjologicznych, jak i patologicznych w organizmie. Wśród EVs wyróżniamy trzy główne typy: najmniejsze egzosomy, większe ektosomy (mikrocząstki, mikropęcherzyki) oraz największe ciała apoptotyczne [17]. Podział ten opiera się głównie na kryterium wielkości, jed-



Rycina 2. Schemat powstawania, degradacji oraz sekrecji egzosomów z uwzględnieniem ścieżek oddziaływania na komórkę docelową. MVBs – ciała wielopęcherzykowe. Opis w tekście.

nak można je również klasyfikować ze względu na pochodzenie, sposób powstawania, skład biologiczny wewnątrz i na ich powierzchni oraz sposób ich izolacji [3]. Grupę najbardziej homogeną wśród EVs stanowią egzozomy, których średnica mieści się w granicach od 30 do nawet 150 nm [18,19]. Są to kuliste struktury zaopatrzone w zestaw aktywnych biomolekuł (ang. *cargo*) otoczonych dwuwarstwową błoną lipidową, na powierzchni której znajdują się specyficzne markery [20]. Ich historia sięga lat 80-tych XX wieku, kiedy to egzozomy zostały zidentyfikowane jako małe pęcherzyki wydzielane podczas różnicowania się retikulocytów [21]. Jednakże Zeringer i in. [18] podają, że termin „egzosom” został wprowadzony po raz pierwszy już w 1981 roku przez Trams’a i in. [22] podczas badań nad wydzielniczą aktywnością linii komórkowych. Egzozomy mogą powstawać zarówno w warunkach *in vivo*, jak i *in vitro* u organizmów eukariotycznych oraz prokariotycznych [23]. Występują one w wielu płynach ustrojowych m.in.: krwi, nasieniu, moczu, ślinie, mleku, płynie otrzewnowym, owodniowym, mózgowo-rdzeniowym, żółci, płynie oskrzelowo-pęcherzykowym, a także w płynie pęcherzykowym [18, 24]. Powstają w sposób konstytutywny w ciałkach wielopęcherzykowych (MVBs, ang. *multivesicular bodies*) zwanych endosomami późnymi. Z powierzchni błony komórkowej uwalniane są w procesie egzocytozy [20].

Sposób powstawania i uwalniania egzozomów z powierzchni komórki macierzystej różni się od mechanizmów tworzenia innych EVs. Można go podzielić na trzy główne etapy – pierwszy, polegający na powstawaniu MVBs na drodze endosomalnej, drugi na transporcie MVBs w kierunku błony plazmatycznej i ostatni, opierający się na uwolnieniu egzozomów na skutek fuzji MVBs z błoną komórkową (Ryc. 2) [25]. Na początku procesu biogenezy pęcherzyków dochodzi do internalizacji błony komórkowej w procesie endocytozy i tworzenia wczesnych endosomów. Następnie struktury te „pączkują”, w związku z czym po pewnym czasie tworzą się endozomy późne (MVBs) zawierające liczne pęcherzyki. Następnie dochodzi do migracji MVBs w kierunku błony komórkowej, w co zaangażowany jest sortujący kompleks białkowy ESCRT (ang. *endosomal sorting complex required for transport*), który odpowiada także za organizację egzozomów wewnątrz MVBs. Ostatnie doniesienia naukowe sugerują istnienie alternatywnego mechanizmu formowania się egzozomów, który jest niezależny od ESCRT i angażuje błonowe lipidy oraz tetraspaniny [4,26]. Może zdarzyć się również tak, że pęcherzyki znajdujące się w MVBs zostaną poddane ubiquitynizacji i kierowane będą do degradacji w lizosomach (Ryc. 2).

Powstawanie pęcherzyków kontrolowane jest również przez białka z rodziny Rab: Rab5, Rab7, Rab11, Rab 27a/b, Rab35, które wraz z transbłonowym kompleksem SNARE (ang. *soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptor*) towarzyszą MVBs, aż do momentu ich fuzji z błoną komórkową i uwolnienia funkcjonalnych egzozomów do macierzy zewnątrzkomórkowej [23,26]. Najnowsze badania wskazują, że w tworzeniu egzozomów bierze udział także białko przeciwnowotworowe p53 oraz jego efektor TSAP6, które wpływają stymulująco na ich produkcję. Ponadto inne badania sugerują, że syndekan, wchodząc w interakcję z białkiem ALIX poprzez motyw aminokwasowy

Leu-Tyr-Pro-X(n)-Leu, wpływa na endosomalne powstawanie egzozomów w MVBs [27]. Egzozomy powstające według przedstawionego powyżej mechanizmu mogą być uwalniane z różnych komórek w organizmie m.in.: płytek krwi, komórek odpornościowych, w tym limfocytów T, komórek nerwowych, w tym oligodendrocytów, czy komórek Schwanna, komórek nabłonków większości układów, w tym z komórek nabłonkowych jelit, endometrium, łożyska i błon śluzowych, komórek nowotworowych, a także komórek pęcherzyka jajnikowego [16,18].

Ładunek biologiczny przenoszony przez EVs na ogół stanowi odzwierciedlenie składu komórek rodzicielskich. Jednak w przypadku egzozomów jest nieco inaczej, głównie ze względu na inny niż u pozostałych pęcherzyków zewnątrzkomórkowych mechanizm powstawania [23]. Niemniej jednak wszystkie EVs zbudowane są z dwuwarstwowej błony lipidowej o średniej grubości około 5 nm, w obrębie której znajdują się białka, lipidy oraz cukry, a także z ładunku molekularnego, który otacza ta błona [28]. W obrębie lipidów powierzchniowych charakterystycznym składnikiem błony egzosomalnej są tratwy lipidowe (ang. *lipid rafts*) w postaci sfingolipidów (m.in. ceramidu, który odróżnia te pęcherzyki od lizosomów), a także cholesterolu oraz fosfolipidów z długimi nasyconymi łańcuchami kwasów tłuszczowych [19]. Podczas tworzenia się egzozomów na drodze endocytarnej dochodzi do reorganizacji składników błony lipidowej, w związku z czym struktura ta różni się od powierzchni błony komórki macierzystej. Główna różnica polega na wbudowywaniu fosfatydyloseryny po zewnętrznej stronie błony egzozomów [29]. Ponadto zauważalna jest większa zawartość cholesterolu w pęcherzykach egzosomalnych w odróżnieniu od komórki, z której one pochodzą [30]. Dzięki tym substancjom błona egzozomów jest bardziej sztywna i wytrzymała w stosunku do komórki macierzystej [31]. Egzozomy posiadają charakterystyczne markery powierzchniowe, m.in. tetraspaniny: CD9, CD63, CD81, białka uczestniczące w transporcie i fuzji błonowej: GTPazy, aneksyny, flotyliny, białka głównego układu zgodności tkankowej MHC I oraz II, białko wiążące lipidy (MFGE8), integryny, peptydazy (CD13, CD26), galektynę 3, białka GPI-zakotwiczone (CD55, CD59) oraz inne białka transbłonowe. Natomiast we wnętrzu egzozomów znajdziemy białka szoku cieplnego (Hsc70, Hsp90, Hsp60, Hsp70), białka zaangażowane w biogenezę MVBs (Alix, TSG101, klatryna), białka z rodziny Rab, enzymy związane z procesem apoptozy (ALG-2, TPxII), białka cytoszkieletu (m.in. aktyna, tubulina, fibronektyna), białka sygnałowe (m.in. EGFR, PI3K) oraz enzymy (m.in. dehydrogenaza gliceroaldehydofosforanowa, kinaza fosfoglicerynianowa, ATP-azy, enolazy), a także czynniki translacyjne (m.in. eIF4, eEF1) [21,26]. Po zewnętrznej stronie egzozomów usytuowane są także łańcuchy cukrowe, tj. mannoza, polilaktozamina, kwas sialowy oraz N-glikany [32].

Na ładunek egzozomów składa się również ważny element z punktu widzenia funkcjonowania komórek, czyli materiał genetyczny. W pęcherzykach egzosomalnych obecne są zarówno cząsteczki kwasu deoksyrybonukleinowego (DNA), jak i kwasu rybonukleinowego (RNA), w tym głównie mRNA oraz mikroRNA (miRNA) [19]. Transkrypt przeniesiony do komórki docelowej może w niej ulegać

Tabela 1. Przykłady funkcji egzosomów wyizolowanych z płynu pęcherzykowego ssaków.

Model doświadczalny	Metoda izolacji	Funkcja egzosomów	Piśmiennictwo
Klacz	ExoQuick	Transport białek i miRNA, regulacja funkcji komórek ziarnistych i jakości oocytu	[24]
Bydło	ExoQuick Ultrawirowanie różnicujące	Transport miRNA, regulacja dojrzewania pęcherzyka jajnikowego i wzrostu oocytu	[38]
Klacz	ExoQuick Ultrawirowanie różnicujące	Regulacja dojrzewania pęcherzyka jajnikowego poprzez wpływ na szlak sygnalizacyjny TGFβ/BMP w komórkach ziarnistych	[41]
Człowiek	Ultrawirowanie różnicujące	Transport miRNA i wpływ na płodność	[42]
Człowiek	Ultrawirowanie różnicujące	Transport miRNA, regulacja wzrostu pęcherzyka jajnikowego i dojrzewania oocytu	[43]
Klacz	ExoQuick	Transport miRNA i wpływ na rozwój pęcherzyka antralnego	[37]
Klacz	ExoQuick	Transport miRNA i wpływ na dojrzewanie pęcherzyków jajnikowych poprzez regulację ekspresji czynników należących do nadrodziny TGFβ	[44]
Bydło	Ultrawirowanie różnicujące	Transport miRNA, rola zależna od stadium rozwoju pęcherzyka jajnikowego	[45]
Świnia	Total Exosome Isolation Reagent	Rola w ekspansji wzgórka jajonośnego	[39]
Świnia	Total Exosome Isolation Reagent	Funkcja zależna od stadium rozwoju pęcherzyka jajnikowego	[46]
Człowiek	Total Exosome Isolation Reagent	Transport circRNA, rola w patogenezie zespołu policystycznych jajników	[47]

ekspresji, z kolei miRNA odgrywa ważną rolę w regulacji ekspresji wielu genów. W składzie egzosomów w mniejszej ilości znajdziemy także niekodujące RNA (m.in. saRNA, piRNA, snoRNA), transportowe RNA (tRNA) oraz rybosomalne RNA (rRNA) [18]. Dostatecznie duża powtarzalność składu białkowego większości egzosomów wskazuje, że sposób ich powstawania nie opiera się na przypadkowym uwalnianiu z powierzchni błony komórek, lecz jest ściśle ukierunkowany [23]. Dodatkowo fakt, że powierzchnia egzosomów nie jest całkowitym odzwierciedleniem błony komórki macierzystej również potwierdza to założenie. Dzięki temu wiemy już, że struktury te nie są jedynie błonowymi „resztkami”, lecz odgrywają kluczową rolę w wielu istotnych procesach biologicznych.

Egzosomom przypisuje się dużą rolę w procesach zachodzących na poziomie komórkowym. Jedną z podstawowych funkcji egzosomów jest komunikacja międzykomórkowa, zarówno na niewielkie, jak i duże odległości przy udziale różnorodnych płynów ustrojowych. Przenoszenie sygnału biologicznego przez egzosomy stanowi nową formę transportu w układach wielokomórkowych, co jest niezwykle istotne dla rozwoju organizmów wyższych. Ponadto pęcherzyki te biorą udział w procesach tj. koagulacja, prezentowanie antygenów, „zarządzanie” resztkami komórkowymi, ale także angiogeneza, proliferacja, starzenie się komórek, apoptoza, różnicowanie, przenoszenie sygnałów immunologicznych [19]. Wpływ egzosomów na wyżej wymienione procesy widoczny jest niemal we wszystkich tkankach organizmów żywych, co potwierdza ogromny potencjał funkcjonalny tych struktur. Co ciekawe, ostatnie doniesienia wskazują, że egzosomy pełnią również istotną funkcję w układzie rozrodczym. Mogą one oddziaływać na gamety żeńskie i męskie, przez co wpływają na proces zapłodnie-

nia, implantację zarodka, a nawet na przebieg ciąży modulując odpowiedź immunologiczną matki [16,33]. Jednak oprócz oddziaływania egzosomów na procesy fizjologiczne, zauważono również dużą ich aktywność w procesach patologicznych, m.in. w chorobach neurodegeneracyjnych, nowotworach czy AIDS [34-36].

FUNKCJA EGZOSOMÓW W PĘCHERZYKU JAJNIKOWYM

W literaturze naukowej pojawiają się coraz częściej doniesienia na temat obecności egzosomów w dotychczas nieprzebadanych pod tym kątem płynach ustrojowych. Interesującym materiałem okazał się być także płyn pęcherzykowy, zarówno ludzi i zwierząt. Po raz pierwszy egzosomy zostały wyizolowane i scharakteryzowane przez da Silveira i in. [24] u klaczy w 2012 roku. Wykryto w nich materiał genetyczny w postaci miRNA, który dalej został opisany pod względem funkcji jakie może pełnić w komórkach pęcherzyka jajnikowego [37]. U bydła jako pierwsi egzosomy wyizolowali Sohel i in. [38], wykazując przy tym, podobnie jak u klaczy, że przenoszą one miRNA. Egzosomy w płynie pęcherzykowym świnii zidentyfikowano w 2017 roku [39]. W tym samym roku Keningsberg i in. [40] opublikowali protokół izolacji egzosomów, w którym po raz pierwszy wprowadzili termin „follikulosom” (ang. *folliculosome*) dla określenia egzosomów pochodzących z płynu pęcherzykowego, co podkreśla specyficzne pochodzenie wyizolowanych struktur. Odkrycie egzosomów u zwierząt skłoniło naukowców także do badań nad ludzkimi pęcherzykami jajnikowymi [42,43,47]. W Tabeli 1 przedstawiono chronologicznie przykłady modeli doświadczalnych, u których izolowano egzosomy z płynu pęcherzykowego z uwzględnieniem pełnionych przez nie funkcji oraz metody izolacji.

Kluczowym elementem w analizie egzosomów jest wybór odpowiedniej metody ich izolacji uwzględniającej niezbędne parametry tego procesu [3]. Najczęściej wybieraną metodą izolacji egzosomów z płynu pęcherzykowego są komercyjne zestawy do precypitacji EVs, charakteryzujące się krótką procedurą oraz nie wymagające użycia ultrawiółki. Są to zestawy ExoQuick™ (System Biosciences) oraz Total Exosome Isolation Reagent™ (ThermoFisher Scientific) [40]. Oprócz łatwej procedury izolacji, zestawy te mają także inne zalety m.in. zdolność do wytrącania egzosomów przy neutralnym pH oraz wysokich stężeniach jonów [48]. Ze względu na aspekt ekonomiczny, oprócz komercyjnych zestawów stosuje się również ultrawiółkowanie, wirowanie w gradiencie gęstości, metody chromatograficzne (np. chromatografia wykluczenia SEC, chromatografia powinowactwa) oraz metody immunologiczne (np. kulki magnetyczne opłaszczane przeciwciałami) [3,40]. Biorąc pod uwagę objętość płynu pęcherzykowego w pojedynczym pęcherzyku antralnym (u ludzi około 100 μ l), istnieją pewne ograniczenia w procesie izolacji. W tej małej objętości płynu pęcherzykowego znajduje się wiele białek m.in. immunoglobuliny czy albuminy, które mogą maskować EVs w dalszych etapach analizy. Ponadto w przypadku metody wykorzystującej ultrawiółkowanie w wysokich prędkościach możliwa jest degradacja struktury EVs, co jest zjawiskiem niepożądanym [3]. Natomiast przy komercyjnych zestawach zdarza się, że zastosowane odczynniki chemiczne zakłócają dalsze analizy jakościowe lub ilościowe egzosomów. Mimo tego, zestawy oparte na precypitacji glikolem polietylenowym są wciąż najczęściej stosowaną metodą pozyskiwania egzosomów. Należy również pamiętać, że nie wszystkie metody odpowiednie do izolacji egzosomów z medium hodowlanego nadają się do ich izolacji z płynów ustrojowych. Zawierają one więcej składników białkowych i komórkowych zanieczyszczeń, które można wyeliminować z próbki wprowadzając dodatkowe etapy podczas izolacji, np. proces filtracji [3,40].

Istnieje wiele hipotez dotyczących zaangażowania egzosomów zarówno w fizjologiczne, jak i patologiczne procesy zachodzące w jajniku, jednak większość z nich wciąż czeka na potwierdzenie. Wśród najczęściej opisywanych funkcji egzosomów wymienia się te związane z transportem miRNA. Ważnym aspektem jest również obecność innych funkcjonalnych komponentów m.in. niekodującego RNA (ncRNA), mitochondrialnego DNA (mtDNA) oraz białek [4]. Elementem białkowego składu egzosomów są cytokiny, które znane są ze zdolności do pełnienia funkcji regulującej proces proliferacji i różnicowania komórek w pęcherzyku jajnikowym, atrezji pęcherzyka oraz dojrzewania oocyty [49]. Innym przykładem białkowych komponentów egzosomalnych są białka z rodziny Wnt, zaangażowane w komórkowe szlaki sygnalizacyjne. Receptory dla tych białek ulegają ekspresji na określonych etapach rozwoju pęcherzyka jajnikowego oraz podczas luteinizacji [4,50]. Zbadanie mechanizmów funkcjonowania tych szlaków w kontekście działania egzosomów wydaje się być niezbędne do lepszego zrozumienia procesu folikulogenezy.

Egzosomy są również przedmiotem badań w kontekście ekspresji genów odpowiedzialnych za dojrzewanie oocyty.

U klaczy dowiedziono, że egzosomy wpływają na ekspresję genów *TGF β* i *BMP15* [44]. Najnowsze doniesienia wskazują, że ich ekspresja zmienia się w różnych warunkach środowiska. Naukowcy badali wpływ szoku cieplnego u krów na dojrzewanie oocytów *in vitro*. Geny odpowiedzialne za jakość oocyty (m.in. *BMP15*, *GDF9*) wykazywały mniejszą ekspresję w warunkach temperaturowo neutralnych w stosunku do tych, które zostały narażone na szok cieplny [51]. Ponadto inne badania wykazały, że egzosomy regulują dojrzewanie oocyty w zależności od poziomu ekspresji miRNA [38]. Następnie Hung i in. [52] wskazali, że folikulosom pęcherzyków antralnych u bydła wpływa na ekspansję komórek kompleksu COC. Ten sam zespół wykazał na modelu bydłecym, że egzosomalne miRNA mogą modulować ekspresję genów zaangażowanych w ten proces, który jest kluczowy dla prawidłowej owulacji. Sugeruje to obecność nowego mechanizmu regulującego ekspansję COCs, który może wpływać na utrzymanie płodności przez samice [53].

Wiele badań naukowych poświęconych jest tematyce egzosomalnego miRNA i to właśnie jego działanie opisywane jest najczęściej w odniesieniu do egzosomów. Santonocito i in. [43] wykazali, że folikulosom ludzi zawiera różne rodzaje miRNA (np. *miR-99a*, *miR-100*, *miR-132*), które mogą regulować szlaki biologiczne krytyczne dla rozwoju i dojrzewania oocyty. Istnieje wiele hipotez, w których egzosomalne miRNA odgrywa kluczową rolę w folikulogenezie. Jednym z przykładów jest wpływ miRNA folikulosomu na aktywację szlaku PI3K w komórkach ziarnistych i oocycie, odpowiedzialnego za dojrzewanie pęcherzyków jajnikowych.

Obecność EVs wykazano w płynach pochodzących z żeńskiego (pęcherzyk jajnikowy, macica, jajowód) oraz męskiego (najądrze, prostata) układu rozrodczego [54-56]. Oprócz wyżej wymienionych fizjologicznych funkcji egzosomów, w literaturze opisano również ich znaczenie w stanach patologicznych organizmu. Campoy i in. [57] wyizolowali frakcję egzosomów pochodzącą z płynu macicznego kobiet z łagodnymi schorzeniami ginekologicznymi. Ponadto Sang i in. [58] izolowali pęcherzyki różnych klas z płynu pęcherzykowego kobiet z zespołem policystycznych jajników (PCOS, ang. *polycystic ovarian syndrome*). Najnowsze badania przeprowadzone na grupie pacjentek z PCOS dowiodły obecności w płynie pęcherzykowym zestawu kolistych RNA (circRNA, ang. *circular RNA*) pochodzenia egzosomalnego, z których większość zaangażowana była w procesy występujące w patogenezie PCOS tj. infekcje bakteryjne, stres oksydacyjny czy autofagia. Badania te są podwaliną do dalszych analiz dotyczących roli tych cząsteczek w patogenezie PCOS [47]. Najnowsze prace odnoszą się także do roli egzosomów jako potencjalnych biomarkerów nowotworu jajnika. W EVs izolowanych z surowicy krwi kobiet z nowotworem jajnika obserwowano wysoką ekspresję *miR-21*, *miR-141*, *miR-200* i *miR-214* [59]. U tych pacjentek analizowano także obecność egzosomów w moczu i wykazano w nich podwyższony poziom *miR-30a-5p*, który korelował ze stadium rozwoju nowotworu [60]. Dowiedziono, że EVs są również nośnikami białka CA125, markera nowotworu jajnika, a jego poziom jest wyższy w EVs niż w surowicy krwi we wczesnym stadium nowotworu. Sugeruje się, że drugim ważnym białkiem diagnostycznym transportowanym przez

EVs może być klaudyna 4, gdyż jej ekspresja pozytywnie koreluje ze stadiem rozwoju nowotworu [61]. Najnowsze prace wskazują, że oprócz miRNA i białek, także inne molekuly egzosomalne (np. fosfatydylseryna) mogą być obiecującymi markerami wykorzystywanymi w diagnostyce nowotworu jajnika [61]. Wymaga to jednak dalszych badań.

Analizy folikulosomu prowadzone przez naukowców na przestrzeni ostatnich lat wskazują, że dziedzina ta dopiero zaczyna się rozwijać. Skupiają się one głównie na identyfikacji egzosomów w płynie pęcherzykowym oraz badaniu transportowanego przez nie materiału biologicznego. Szczegółowa analiza ładunku molekularnego jaki przynosi dostarcza informacji o mechanizmie ich powstawania w pęcherzyku jajnikowym, a także pozwala przewidzieć potencjalny efekt ich działania. Ponadto egzosomy mogłyby zostać wykorzystane jako swoiste biomarkery do monitorowania jakości oocytów m.in. podczas zapłodnienia pozaustrojowego (IVF, ang. *in vitro fertilization*) u ludzi i zwierząt gospodarskich [4]. Oprócz tego warto zaznaczyć, że pęcherzyk jajnikowy jest bardzo dobrym modelem do badań egzosomów oraz mechanizmów zaangażowanych w ich transport. Stanowi on bowiem mały, zamknięty system, w którym łatwo wskazać komórki, z których EVs mogą się uwalniać i wbudowywać w sąsiednie tkanki [4]. W związku z tym konieczne jest dalsze badanie folikulosomu, co znajduje też swoje potwierdzenie we wzrastającej liczbie artykułów naukowych na ten temat.

PIŚMIENNICTWO

1. Kotarska K (2009) Ekspansja komórek ziarnistych wżgórka jajonośnego – proces niezbędny do prawidłowego przebiegu owulacji i zapłodnienia. *Post Biol Kom* 36: 171-187
2. Grzybowska A, Lorenc T, Olejarz W, Nowicka G (2019) Egzosomy jako nośniki informacji w komunikacji między komórkami nowotworowymi. *Biuletyn WF WUM* 2: 6-13
3. Popiołek K, Grzesiak M (2018) Metody izolacji pęcherzyków zewnątrzkomórkowych – zalety i wady. *Post Biol Kom* 45: 63-76
4. Di Pietro C (2016) Exosome-mediated communication in the ovarian follicle. *J Assist Reprod Genet* 33: 303-311
5. Szoltyś M (1992) Struktura i funkcja pęcherzyków jajnikowych ssa-ków. *Post Biol Kom* 19: 221-238
6. Kidder GM, Vanderhyden BC (2010) Bidirectional communication between oocytes and follicle cells: ensuring oocyte developmental competence. *Can J Physiol Pharmacol* 88: 399-413
7. Fahiminiya S, Gérard N (2010) Follicular fluid in mammals. *Gynecol Obstet Fertil* 38: 402-404
8. Manarang-Pangan S, Menge AC (1971) Immunologic studies on human follicular fluid. *Fertil Steril* 22: 367-372
9. Kamiński T, Przala J (1994) Czynniki wzrostowe w jajniku. *Post Biol Kom* 21: 79-92
10. Rodgers RJ, Irving-Rodgers HF (2010) Formation of the ovarian follicular antrum and follicular fluid. *Biol Reprod* 82: 1021-1029
11. Starowicz A, Grzesiak M, Mobasher A, Szoltyś M (2014) Immunocalization of aquaporin 5 during rat ovarian follicle development and expansion of the preovulatory cumulus oophorus. *Acta Histochem* 116: 457-465
12. Revelli A, Piane LD, Casano S, Molinari E, Massobrio M, Rinaudo P (2009) Follicular fluid content and oocyte quality: from single biochemical markers to metabolomics. *Reprod Biol Endocrinol* 7: 1-13
13. Rosairo D, Kuyznierewicz I, Findlay J, Drummond A (2008) Transforming growth factor-beta: its role in ovarian follicle development. *Reproduction* 136: 799-809

14. Malamitsi-Puchner A (2006) Novel follicular fluid factors influencing oocyte developmental potential in IVF: a review. *Reprod BioMed* 12: 500-506
15. Basuino L, Silveira CF Jr (2016) Human follicular fluid and effects on reproduction. *JBRA Assist Reprod* 20: 38-40
16. Nguyen HP, Simpson RJ, Salamonsen LA, Greening DW (2016) Extracellular vesicles in the intrauterine environment: challenges and potential functions. *Biol Reprod* 95: 1-12
17. Stępień E, Targosz-Korecka M (2013) Mikrocząstki w regulacji funkcji śródbłonna. *Postepy Biochem* 59: 395-404
18. Zeringer E, Barta T, Li M, Vlassov AV (2015) Strategies for isolation of exosomes. *Cold Spring Harb Protoc* 2015: 319-323
19. Li P, Kaslan M, Lee SH, Yao J, Gao Z (2017) Progress in exosome isolation techniques. *Theranostics* 7: 789-804
20. Surman M, Stępień E, Hoja-Łukowicz D, Przybyło M (2017) Deciphering the role of ectosomes in cancer development and progression: focus on the proteome. *Clin Exp Metastasis* 34: 273-289
21. Wesółowska A, Piwocka K (2017) Egzosomalne mikroRNA jako element komunikacji międzykomórkowej w nowotworach. *Postepy Biochem* 63: 110-118
22. Trams EG, Lauter CJ, Salem N Jr, Heine U (1981) Exfoliation of membrane ecto-enzymes in the form of micro-vesicles. *Biochim Biophys Acta* 645: 63-70
23. Wójtowicz A, Baj-Krzyworzeka M, Baran J (2014) Charakterystyka i znaczenie biologiczne mikropęcherzyków błonowych. *Postep Hig Med Dosw* 68: 1421-1432
24. Da Silveira JC, Veeramachaneni DN, Winger QA, Carnevale EM, Boma GJ (2012) Cell-secreted vesicles in equine ovarian follicular fluid contain miRNAs and proteins: a possible new form of cell communication within the ovarian follicle. *Biol Reprod* 86: 1-10
25. Skotland T, Sandvig K, Llorente A (2017) Lipids in exosomes: Current knowledge and the way forward. *Prog Lipid Res* 66: 30-41
26. Xu R, Greening DW, Zhu H-J, Takahashi N, Simpson RJ (2016) Extracellular vesicle isolation and characterization: toward clinical application. *Journal Clin Invest* 126: 1152-1162
27. Zhang X, Yuan X, Shi H, Wu L, Qian H, Xu W (2015) Exosomes in cancer: small particle, big player. *J Hematol Oncol* 8: 83
28. Lobb RJ, Becker M, Wen SW, Wong CSF, Wiegman AP, Leimgruber A, et al. (2015) Optimized exosome isolation protocol for cell culture supernatant and human plasma. *J Extracell Vesicles* 4: 27031
29. Fitzner D, Schnaars M, van Rossum D, Krishnamoorthy G, Dibaj P, Bakhti M, et al. (2011) Selective transfer of exosomes from oligodendrocytes to microglia by macropinocytosis. *J Cell Sci* 124: 447-458
30. Llorente A, Skotland T, Sylvänne T, Kauhanen D, Róg T, Orłowski A, et al. (2013) Molecular lipidomics of exosomes released by PC-3 prostate cancer cells. *Biochim Biophys Acta* 1831: 1302-1309
31. Zaborowski MP, Balaj L, Breakefield XO, Lai CP (2015) Extracellular vesicles: composition, biological relevance, and methods of study. *Bio-science* 65: 783-797
32. Laulagnier K, Motta C, Hamdi S, Roy S, Fauvelle F, Pageaux JF, et al. (2004) Mast cell- and dendritic cell-derived exosomes display a specific lipid composition and an unusual membrane organization. *Biochem J* 380: 161-171
33. Tannetta D, Dragovic R, Alyahyaei Z, Southcombe J (2014) Extracellular vesicles and reproduction-promotion of successful pregnancy. *Cell Mol Immunol* 11: 548-563
34. Milane L, Singh A, Mattheolabakis G, Suresh M, Amiji MM (2015) Exosome mediated communication within the tumor microenvironment. *J Control Release* 219: 278-294
35. Howitt J, Hill AF (2016) Exosomes in the pathology of neurodegenerative diseases. *J Biol Chem* 291: 26589-26597
36. Konadu KA, Huang MB, Roth W, Armstrong W, Powell M, Villinger F, et al. (2016) Isolation of exosomes from the plasma of HIV-1 positive individuals. *J Vis Exp* 107: e53495

37. Da Silveira JC, de Andrade GM, Nogueira MF, Meirelles FV, Perecin F (2015) Involvement of miRNAs and cell-secreted vesicles in mammalian ovarian antral follicle development. *Reprod Sci* 22: 1474-1483
38. Sohel MMH, Hoelker M, Noferesti SS, Salilew-Wondim D, Tholen E, Looft C, *et al.* (2013) Exosomal and non-exosomal transport of extracellular micRNAs in follicular fluid: implications for bovine oocyte developmental competence. *PLoS ONE* 8: e78505
39. Matsuno Y, Onuma A, Fujioka YA, Yasuhara K, Fujii W, Naito K, *et al.* (2017) Effects of exosome-like vesicles on cumulus expansion in pigs *in vitro*. *J Reprod Dev* 63: 51-58
40. Kenigsberg S, Wyse BA, Librach CL, da Silveira JC (2017) Protocol for exosome isolation from small volume of ovarian follicular fluid: evaluation of ultracentrifugation and commercial kits. *Methods Mol Biol* 1660: 321-341
41. Da Silveira JC, Carnevale EM, Winger QA, Bouma GJ (2014) Regulation of ACVR1 and ID2 by cell-secreted exosomes during follicle maturation in the mare. *Reprod Biol Endocrinol* 12: 44
42. Diez-Fraile A, Lammens T, Tilleman K, Witkowski W, Verhasselt B, De Sutter P, *et al.* (2014) Age-associated differential microRNA levels in human follicular fluid reveal pathways potentially determining fertility and success of *in vitro* fertilization. *Hum Fertil (Camb)* 17: 90-98
43. Santonocito M, Vento M, Guglielmino MR, Battaglia R, Wahlgren J, Ragusa M, *et al.* (2014) Molecular characterization of exosomes and their microRNA cargo in human follicular fluid: bioinformatic analysis reveals that exosomal microRNAs control pathways involved in follicular maturation. *Fertil Steril* 102: 1751-1761
44. Da Silveira JC, Winger QA, Bouma GJ, Carnevale EM (2015) Effects of age on follicular fluid exosomal microRNAs and granulosa cell transforming growth factor- β signalling during follicle development in the mare. *Reprod Fertil Dev* 27: 897-905
45. Navakanitworakul R, Hung WT, Gunewardena S, Davis JS, Chotigeat W, Christenson LK (2016) Characterization and small RNA content of extracellular vesicles in follicular fluid of developing bovine antral follicles. *Sci Rep* 6: 25486
46. Popiołek K, Grzesiak M (2019) Identification of exosomes in porcine ovarian follicular fluid – a new approach into cell-to-cell communication within the ovary. 5th International Conference of Cell Biology (Book of Abstract), Kraków 2.1: 154
47. Wang L (2019) High throughput circRNAs sequencing profile of follicle fluid exosomes of polycystic ovary syndrome patients. *J Cell Physiol* 234: 15537-15547
48. Rider MA, Hurwitz SN, Meckes DG Jr (2016) ExtraPEG: a polyethylene glycol-based method for enrichment of extracellular vesicles. *Sci Rep* 6: 23978
49. Field SL, Dasgupta T, Cummings M, Orsi NM (2014) Cytokines in ovarian folliculogenesis, oocyte maturation and luteinisation. *Mol Reprod Dev* 81: 284-314
50. Gross JC, Chaudhary V, Bartscherer K, Boutros M (2012) Active Wnt proteins are secreted on exosomes. *Nat Cell Biol* 14: 1036-45
51. Morales Dalanezi F, Mogollon Garcia HD, de Andrade Ferrazza R, Fagali Franchi F, Kubo Fontes P, de Souza Castilho AC, *et al.* (2019) Extracellular vesicles of follicular fluid from heat-stressed cows modify the gene expression of *in vitro*-matured oocytes. *Anim Reprod Sci* 205: 94-104
52. Hung WT, Hong X, Christenson LK, McGinnis LK (2015) Extracellular vesicles from bovine follicular fluid support cumulus expansion. *Biol Reprod* 93: 1-19
53. Hung WT, Navakanitworakul R, Khan T, Zhang P, Davis JS, McGinnis LK, *et al.* (2017) Stage-specific follicular extracellular vesicle uptake and regulation of bovine granulosa cell proliferation. *Biol Reprod* 97: 644-655
54. Saez F, Frenette G, Sullivan R (2003) Epididymosomes and prostasomes: their roles in posttesticular maturation of the sperm cells. *J Androl* 24: 149-154
55. Al-Dossary AA, Bathala P, Caplan JL, Martin-DeLeon PA (2015) Oviductosome-sperm membrane interaction in cargo delivery. *J Biol Chem* 290: 17710-17723
56. Martin-DeLeon PA (2016) Uterosomes: exosomal cargo during the estrus cycle and interaction with sperm. *Front Biosci* 8: 115-122
57. Campoy I, Lanau L, Altadill T, Sequeiros T, Cabrera S, Cubo-Abert M, *et al.* (2016) Exosome-like vesicles in uterine aspirates: a comparison of ultracentrifugation-based isolation protocols. *J Trans Med* 14: 180
58. Sang Q, Yao Z, Wang H, Feng R, Wang H, Zhao X, *et al.* (2013) Identification of microRNAs in human follicular fluid: characterization of microRNAs that govern steroidogenesis *in vitro* and are associated with polycystic ovary syndrome *in vivo*. *J Clin Endocrinol Metab* 98: 3068-3079
59. Taylor DD, Gercel-Taylor C (2008) MicroRNA signatures of tumor-derived exosomes as diagnostic biomarkers of ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 110: 13-21
60. Zhou J, Gong G, Tan H, Dai F, Zhu X, Chen Y, *et al.* (2015) Urinary microRNA-30a-5p is a potential biomarkers for ovarian serous adenocarcinoma. *Oncol Rep* 33: 2915-2923
61. Carollo E, Paris B, Samuel P, Pantazi P, Bartelli TF, Dias-Neto E, *et al.* (2019) Detecting ovarian cancer using extracellular vesicles: progress and possibilities. *Biochem Soc Trans* 47: 295-304

Exosomes as a new approach into cell-to-cell communication within the mammalian ovary

Katarzyna Popiołek¹, Małgorzata Grzesiak²✉

¹Department of Animal Physiology and Endocrinology, Faculty of Animal Science, University of Agriculture in Krakow, Krakow

²Department of Endocrinology, Institute of Zoology and Biomedical Research, Faculty of Biology, Jagiellonian University in Krakow, Krakow

✉Corresponding author: m.e.grzesiak@uj.edu.pl

Key words: exosomes, extracellular vesicles, follicular fluid, ovarian follicle

ABSTRACT

The ovarian follicle filled with follicular fluid creates an optimal environment for oocyte growth and maturation. Follicular fluid contains a wide range of biologically active molecules that regulate the functions of the oocyte and somatic cells in the ovarian follicle. Recently it has been confirmed that exosomes are present in the follicular fluid of human and animals. These nanosized, spherical structures surrounded by a lipid bilayer, carry an active biological charge as proteins, lipids, carbohydrates and genetic material. Due to the ability to passive migration in body fluids, exosomes move a long distances in the body and modulate the function of target cells. The importance of exosomes in the ovarian follicle is still not fully understood. To date their communication role and impact on physiological and pathological processes in the ovary are suggested. Research on follicular fluid derived exosomes provides an opportunity to better understand the processes in which they are involved within the follicle. In addition, the potential clinical application of exosomes, including treatment and diagnosis of female reproductive system diseases, leads scientists to further research.