

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ АДЕНИЛАТЦИКЛАЗЫ И ГУАНИЛАТЦИКЛАЗЫ В СПЕРМАТОЗОИДАХ ЧЕЛОВЕКА С РАЗЛИЧНОЙ ПОДВИЖНОСТЬЮ

© К. В. Деркач,¹ А. О. Шпаков,¹ А. Ю. Грязнов²

¹ Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН

² Центр планирования семьи при Женской консультации № 44 Минздравоохранения РФ, Санкт-Петербург;

¹ электронный адрес: alex_shpakov@list.ru

Важнейшей функциональной характеристикой эякулированных сперматозоидов является их способность к направленному поступательному движению, что в значительной степени определяет их фертильность. Предполагается, что ключевую роль в регуляции подвижности играют ферменты с циклазной активностью — аденилатциклаза (АЦ) и гуанилатциклаза (ГЦ), растворимые и мембранно-связанные формы которых обнаружены в сперматозоидах человека и млекопитающих. Однако функциональная активность ферментов-циклаз в эякулированных сперматозоидах с различной подвижностью и их вклад в регуляцию этого процесса практически не исследованы. Цель работы состояла в функциональной характеристике АЦ и ГЦ в эякулятах сперматозоидов человека с различной долей их подвижных форм и в исследовании регуляции этих ферментов гормонами и негормональными агентами. Нами выявлены различия в активности и регуляторных свойствах АЦ и ГЦ в эякулятах, различающихся по содержанию подвижных форм сперматозоидов. В эякулятах с высокой долей подвижных сперматозоидов были повышены базальная активность АЦ и ее чувствительность к бикарбонатным анионам и катионам марганца, активаторам цитозольных АЦ (цАЦ). В то же время эффекты форсколина, GppNHp и агонистов адренергических рецепторов, которые действуют на мембранно-связанные АЦ (мАЦ), были существенно ниже. Цитозольные ГЦ в эякулятах с высокой долей подвижных сперматозоидов были более чувствительны к катионам марганца, хотя базальная активность ГЦ при этом менялась незначительно. С повышением доли подвижных сперматозоидов в эякуляте снижалась чувствительность рецепторных ГЦ к CNP при сохранении таковой к ANP, что свидетельствует об изменении паттерна регуляции фермента натрийуретическими пептидами в пользу ANP, важнейшего регулятора хемотаксиса сперматозоидов. Таким образом, нами сделан вывод о том, что изменение доли подвижных сперматозоидов в эякуляте приводит к изменениям функциональной активности и регуляторных свойств растворимых и мембранно-связанных форм АЦ и ГЦ. Этот факт может использоваться для контроля за подвижностью, хемотаксисом, акросомальной реакцией и другими процессами, определяющими фертильность мужских половых клеток.

Ключевые слова: аденилатциклаза, адренергический рецептор, гуанилатциклаза, натрийуретический пептид, подвижность, сперматозоид.

Принятые сокращения: AP — адренергический рецептор, АЦ — аденилатциклаза, ГЦ — гуанилатциклаза, мАЦ — мембранно-связанная форма АЦ, рГЦ — рецепторная ГЦ, цАЦ и цГЦ — цитозольная АЦ и ГЦ соответственно, ANP — атриальный натрийуретический пептид, CNP — натрийуретический пептид С-типа, GppNHp — β , γ -имидогуанозин-5'-трифосфат, PACAP-38 — питуитарный АЦ-активирующий полипептид длиной 38 аминокислотных остатков.

Регуляция и мониторинг фертильности сперматозоидов являются одной из актуальных проблем современной репродуктивной медицины. Важнейшей характеристикой сперматозоидов является их способность к направленному движению, что в значительной степени определяет их способность к хемотаксису и оплодотворению яйцеклетки. Семенная плазма с низким содержанием сперматозоидов, способных к прямолинейному быстрому поступательному движению, характеризуется сниженной фертильностью и мало пригодна для репродуктивных технологий. Необходимо отметить, что подвижность сперматозоидов заметно возрастает в процессе капацитации, которая протекает под действием биологически активных веществ уже после того, как сперматозоиды вмес-

те с семенной плазмой секретируются в женский половой тракт (Gugaуа, 2000). Под действием факторов, вызывающих капацитацию, которые имеются в женском половом тракте, начинается перестройка плазматической мембраны сперматозоидов, что делает их гиперподвижными, способными к хемотаксису и акросомальной реакции. Капацитированные сперматозоиды направленно перемещаются по женскому половому тракту, преодолевают слой кумулятивных клеток, окружающих яйцеклетку, разрушают zona pellucida, защитную гликопротеиновую оболочку, окружающую плазматическую мембрану яйцеклетки, и в конечном итоге оплодотворяют ее (Brewis et al., 2005).

Установлено, что некоторые вещества гормональной и негормональной природы повышают подвижность не-

капацированных сперматозоидов и влияют на их способность оплодотворять яйцеклетку (Adeoya-Osiguwa et al., 2006; Zhang et al., 2006; Fujinoki, 2011). Многие из них осуществляют свои регуляторные эффекты через посредство ферментов с циклазной активностью — аденилатциклазу (АЦ) и гуанилатциклазу (ГЦ), которые катализируют синтез двух важнейших вторичных посредников — цАМФ и цГМФ. В настоящее время получены данные о присутствии в сперматозоидах различных форм АЦ и ГЦ — как мембранно-связанных, так и цитозольных (растворимых). Так, в сперматозоидах млекопитающих выявлены мембранно-связанные формы АЦ (мАЦ), а также цитозольные (цАЦ). мАЦ через посредство гетеротримерных G-белков (стимулирующего G_s или ингибирующего G_i типа) функционально сопряжены с гормональными рецепторами (Baxendale, Frazer, 2003; Naz, Sellamuthu, 2006), активность цАЦ регулируется бикарбонатными анионами и катионами двухвалентных металлов — кальция и марганца (Xie et al., 2006).

Ранее нами было показано, что активность мАЦ в сперматозоидах человека регулируется гормонами — биогенными аминами, аденозином и питуитарным АЦ-активирующим полипептидом-38 (РАСАР-38), а также негормональными агентами — гуаниновыми нуклеотидами и форсколином (Шпаков и др., 2013). В свою очередь цАЦ активируется HCO_3^- и Mn^{2+} в миллимолярных концентрациях. Активация АЦ и цАМФ-зависимой протеинкиназы А приводит к формированию F-актиновых филаментов, что необходимо для повышения подвижности сперматозоидов и развития акросомальной реакции (Breitbart et al., 2006). В сперматозоидах млекопитающих также обнаружены рецепторные (мембранно-связанные) формы ГЦ (рГЦ), являющиеся рецепторами для натрийуретических пептидов, и цитозольные формы ГЦ (цГЦ), чувствительные к оксиду азота и катионам марганца (Silvestroni et al., 1992; Revelli et al., 2002).

В пользу присутствия рГЦ в сперматозоидах свидетельствуют как результаты молекулярно-биологических исследований (Silvestroni et al., 1992), так и чувствительность фермента к атриальному натрийуретическому пептиду (ANP) и натрийуретическому пептиду С-типа (CNP) (Шпаков и др., 2013; Bian et al., 2012). В свою очередь стимулирующее влияние доноров оксида азота на активность ГЦ в сперматозоидах указывает на присутствие в них цитозольных форм фермента (Anderson et al., 2009; Miraglia et al., 2011). Имеются данные о влиянии цГМФ и зависимых от него каскадов на подвижность, хемотаксис и акросомальную реакцию сперматозоидов (Rotem et al., 1998; Zhang et al., 2006; Anderson et al., 2009; Miraglia et al., 2011).

Однако до сих пор функциональная активность АЦ и ГЦ в эякулятах сперматозоидов с различной долей их подвижных форм и их вклад в регуляцию подвижности сперматозоидов недостаточно изучены. Требуется проверка предположение о том, что высокое содержание дефектных и малоподвижных форм характеризуется снижением чувствительности к факторам, которые инициируют капацитацию и регулируют подвижность сперматозоидов. Остается невыясненным вопрос о том, какие формы АЦ и ГЦ (цитозольные или мембранно-связанные) вовлечены в контроль за подвижностью сперматозоидов и как их функциональная активность соотносится с долей подвижных сперматозоидов в эякуляте. Решение этих проблем необходимо для разработки новых подходов, повышающих фертильность мужских половых клеток.

Цель предпринятого нами исследования состояла в характеристике ферментов с циклазной активностью — АЦ и ГЦ — в эякулятах сперматозоидов человека с различной долей их подвижных форм, а также в изучении регуляции этих ферментов гормонами и негормональными агентами. Выбор гормонов (регуляторов мАЦ и рГЦ) был продиктован изученной нами ранее чувствительностью АЦ и ГЦ к ним в эякулятах сперматозоидов человека (Шпаков и др., 2013), а также потенциальной ролью этих гормонов в созревании сперматозоидов, контроле за их подвижностью и оплодотворяющей способностью (Baxendale, Frazer, 2003; Naz, Sellamuthu, 2006; Anderson et al., 2009).

Материал и методика

В экспериментах использовали эякулированные сперматозоиды от доноров-добровольцев с различными показателями спермиограммы, которые были получены в Центре планирования семьи (Женская консультация № 44, Санкт-Петербург). Замораживание нативного эякулята проводили через 30—60 мин после его получения. Аликвоту нативного эякулята объемом 1—1.5 мл охлаждали до температуры жидкого азота без использования криопротекторов и использовали для получения гомогената. Оставшийся объем нативного эякулята использовали для спермиологического исследования.

На основе анализа спермиограмм, полученных для 57 индивидуальных образцов эякулированных сперматозоидов, формировали 4 группы образцов, которые различались долей подвижных сперматозоидов. Каждая группа включала в себя по 5 индивидуальных образцов эякулятов, которые, согласно результатам спермиологического исследования, имели наиболее близкие значения доли подвижных сперматозоидов. При объединении в группы использовали одинаковые соотношения индивидуальных образцов эякулятов. К подвижным относили сперматозоиды, которые характеризовались прямой поступательной движением и, согласно Всемирной организации здравоохранения, относились к группам подвижности А и В (WHO Laboratory Manual..., 2003), дефектные формы сперматозоидов определяли по критерию Крюгера и Менквельда (WHO Laboratory Manual..., 2010) (табл. 1). Следует отметить, что прямой корреляции между морфологией сперматозоидов и их подвижностью нет, поскольку очень часто встречаются изолированные астеноспермия (снижение подвижности) и тератозооспермия (нарушение морфологии).

Для отмывки сперматозоидов 250—500 мкл эякулята помещали в пластиковую пробирку, доводили до объема 1.5 мл 25 мМ Tris-HCl-буфером, pH 7.5, который содержал 5 мМ MgCl_2 (буфер А), и центрифугировали (900 g, 3 мин). Полученный осадок ресуспендировали в 1.5 мл буфера А и повторно центрифугировали в том же режиме. Осадок, полученный после второго центрифугирования, ресуспендировали в буфере А для достижения концентрации сперматозоидов $(1-5) \cdot 10^6$ кл./мл и гомогенизировали с помощью ультразвука на приборе УЗДН-2Т (22 кГц, 3 раза по 10 с с интервалами по 30 с). Гомогенат эякулированных сперматозоидов немедленно использовали для определения активности АЦ и ГЦ.

В опытах использовали норадrenalин, изопротеренол, серотонин, РАСАР-38, ANP, CNP, форсколин, креатинфосфат, креатинфосфокиназу из мышц кролика (НФ

2.7.3.2), АТФ, ГТФ, цАМФ, цГМФ, β , γ -имидогуанозин-5'-трифосфат (GppNHp) (Sigma, США). Колоночную хроматографию проводили на нейтральной окиси алюминия (Sigma, США). Для определения активности АЦ и ГЦ использовали соответственно [α - 32 P]АТФ (37 ТБк/ммоль) и [α - 32 P]ГТФ (6000 Ки/ммоль) производства ОАО «Институт реакторных материалов» (Россия).

Определение активности АЦ (АТФ-пирофосфатлиаза циклизирующая, НФ 4.6.1.1) в гомогенатах сперматозоидов проводили при 30 °С и времени инкубации 15 мин, как описано ранее (Shpakov et al., 2010), в инкубационной среде следующего состава (общий объем пробы 50 мкл): 50 мМ Tris-HCl, pH 7.5, 1 мМ АТФ, 20 мМ креатинфосфата, 0.5 мг/мл креатинфосфокиназы, 5 мМ MgCl₂, [α - 32 P]АТФ добавляли из расчета 37 кБк на пробу. Реакцию начинали добавлением 60—120 мкг белка и останавливали внесением в пробу 100 мкл 0.5 М HCl, после чего образцы помещали на 6 мин в кипящую водяную баню, а затем в каждую пробу вносили по 100 мкл 1.5 М имидазола и наносили образцы на колонку с окисью алюминия. Образовавшийся в ходе ферментативной реакции цАМФ элюировали с помощью 12 мл 10 мМ имидазол-HCl-буфера, pH 7.4. Элюат помещали в сцинтилляционные флаконы и измеряли в них радиоактивность по методу Черенкова на счетчике Rackbeta (LKB, Швеция). Активность АЦ выражали в пмоль цАМФ за 1 мин на 1 мг белка.

Определение активности ГЦ (ГТФ-пирофосфатлиаза циклизирующая, НФ 4.6.1.2) проводили, как описано ранее (Шпаков и др., 2011). Образцы инкубировали в течение 10 мин при 30 °С в среде следующего состава: 50 мМ Tris-HCl, pH 7.5, 1 мМ ГТФ, 0.1 мМ цГМФ, 20 мМ креатинфосфата, 0.5 мг/мл креатинфосфокиназы, 5 мМ MgCl₂, [α - 32 P]ГТФ добавляли из расчета 0.5—1 мКи на пробу. Общий объем пробы составил 50 мкл. Реакцию начинали добавлением 60—120 мкг белка. Активность ГЦ выражали в пмоль цГМФ за 1 мин на 1 мг белка.

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием компьютерной программы ANOVA. Каждый эксперимент был выполнен трехкратно. Данные представлены в виде средних значений и их среднестатистической ошибки из нескольких независимых экспериментов. Различия между контрольными пробами и пробами, подвергнутыми воздействию гормональных и негормональных агентов, оценивали как достоверные при $P < 0.05$.

Результаты

Наиболее высокий уровень базальной активности АЦ был выявлен в группе 4 с наибольшей долей подвижных форм сперматозоидов. Эта активность была в 1.5 раза выше, чем в группе 3, где доля подвижных сперматозоидов была ниже в 2 раза, и в 2.5 раза выше, чем в группах 1 и 2, где доля подвижных сперматозоидов была ниже в 4 и 7 раз соответственно (табл. 2). Эти данные указывают на повышение базальной активности АЦ при увеличении доли подвижных сперматозоидов в эякуляте. В группах 3 и 4 с высокой долей подвижных сперматозоидов прирост активности АЦ над ее базальным уровнем при действии гидрокарбоната натрия (50 мМ) — активатора цАЦ — и катионов марганца (5 мМ) — активаторов цАЦ и мАЦ — был существенно выше, чем в группах 1 и 2, где доля подвижных сперматозоидов была ниже. Так, в группе 4 прирост активности фермента в присутствии NaHCO₃ и

Таблица 1

Характеристика групп эякулятов человека с различной долей подвижных сперматозоидов и их дефектных форм

Группа эякулятов	Концентрация сперматозоидов, млн/мл	Доля подвижных сперматозоидов (группы подвижности А и В), %	Критерий Крюгера, %	Концентрация подвижных сперматозоидов, млн/мл
1	43 ± 6	31 ± 7	5 ± 2	13 ± 3
2	41 ± 4	58 ± 6	7 ± 1	23 ± 1
3	70 ± 10	65 ± 7	7 ± 1	43 ± 4
4	125 ± 7	74 ± 3	21 ± 6	93 ± 8

Примечание. Каждая исследуемая группа включала в себя по 5 индивидуальных образцов эякулятов. Подвижность — число эякулированных сперматозоидов с прямолинейным быстрым и медленным поступательным движением, которые, согласно классификации ВОЗ (WHO Laboratory Manual..., 2003), относятся к группам подвижности А и В (группа подвижности А — поступательная подвижность со скоростью не менее 25 мкм/с при 37 °С или не менее 20 мкм/с при 20 °С, группа подвижности В — поступательная подвижность со скоростью 5—20 мкм/с, в норме число сперматозоидов, относящихся к группам подвижности А и В, должно быть не менее 25 %), без учета сперматозоидов с не поступательным движением (согласно классификации ВОЗ, группы подвижности С и D). Морфологический критерий Крюгера и Менквельда отражает долю морфологически нормальных сперматозоидов (доля нормальных сперматозоидов в эякуляте, согласно рекомендациям ВОЗ 2010 г., должна быть не менее 4 %) (WHO Laboratory Manual..., 2010).

Mn²⁺ был соответственно на 74 и 60 % выше, чем в группе 1 (табл. 2). Эти результаты согласуются с тем, что чувствительная к гидрокарбонатным анионам и катионам марганца цАЦ играет ключевую роль в контроле за подвижностью сперматозоидов (Bailey, 2010).

Стимулирующие эффекты форсколина, который непосредственно взаимодействует с каталитическим сайтом мАЦ, и негидролизуемого аналога ГТФ — GppNHp, который активирует фермент через посредство G_s-белков, на активность АЦ были в наибольшей степени выражены в группе 1 с низкой долей подвижных сперматозоидов и при повышении доли подвижных форм заметно снижались. Так, прирост активности АЦ при действии форсколина и GppNHp в группе 4 составил соответственно 72 и 50 % от такового в группе 1 (табл. 2). Полученные результаты указывают на то, что каталитические потенции мАЦ и ее функциональное сопряжение с G_s-белками при снижении доли подвижных сперматозоидов не только не ослабевают, но даже усиливаются. Таким образом, выявлены значительные различия в изменении функциональной активности цАЦ и мАЦ при повышении доли подвижных сперматозоидов в эякуляте: в случае цАЦ она повышается, в случае мАЦ, напротив, снижается.

Далее изучали действие на мАЦ гормонов, которые сопряжены с ферментом, стимулирующим (через G_s-белки) или ингибирующим (через G_i-белки) способом. Показано, что стимулирующие АЦ эффекты лигандов адренергических рецепторов (АР) — неселективного β -АР агониста изопротеренола и α/β -АР агониста норадrenalина, как и соответствующие эффекты форсколина и GppNHp на активность АЦ, при повышении в эякуляте доли подвижных сперматозоидов снижаются (рис. 1). Так, прирост активности АЦ при действии изопротеренола, наиболее активного стимулятора АЦ среди изученных гормонов, в группах 3 и 4 с высокой долей подвижных

Таблица 2

**Базальная и стимулированная негормональными агентами активность АЦ
в гомогенатах эякулированных сперматозоидов человека
с различной долей подвижных форм**

Группа сперматозоидов	Активность АЦ при стимуляции, пмоль цАМФ за 1 мин на 1 мг белка				
	базальная	NaHCO ₃ , 50 мМ	Mn ²⁺ , 5 мМ	форсколин, 10 ⁻⁵ М	GppNHp, 10 ⁻⁵ М
1	11.4 ± 0.8	69.1 ± 3.2 (57.7)	100.8 ± 4.3 (89.4)	65.3 ± 5.5 (53.9)	52.2 ± 3.9 (40.8)
2	12.8 ± 0.4	79.5 ± 4.2 (66.7)	111.5 ± 5.5 (98.7)	53.2 ± 4.7 (40.4)	47.0 ± 4.2 (34.2)
3	19.4 ± 0.7	131.5 ± 5.0 (112.1)	159.5 ± 3.9 (140.1)	53.7 ± 3.5 (34.3)	57.8 ± 1.3 (38.4)
4	29.9 ± 1.1	130.6 ± 5.6 (100.7)	171.5 ± 7.1 (141.6)	68.7 ± 2.1 (38.8)	50.3 ± 3.0 (20.4)

Примечание. В скобках указана величина прироста стимулированной негормональным агентом активности АЦ над базальным уровнем активности фермента (в пмоль цАМФ за 1 мин на 1 мг белка).

сперматозоидов составил 58 и 45 % от такового в группе 1 с низкой долей их подвижных форм. Соответствующий эффект норадреналина при повышении доли подвижных сперматозоидов снижался в еще большей степени. Для стимулирующего АЦ эффекта серотонина картина была обратной — с увеличением доли подвижных сперматозоидов прирост активности фермента, вызванный гормоном, повышался. В группе 1 стимулирующее действие серотонина практически отсутствовало, в то время как в группе 4 оно было сопоставимым с таковым изопротеренола. В случае PACAP-38 корреляции между действием гормона на АЦ и долей подвижных сперматозоидов в эякуляте выявлено не было. Прирост активности АЦ, вызванный PACAP-38 в группах 1 и 4 практически не различался, в то время как в группах 2 и 3 он был снижен на 20—25 % (рис. 1). Таким образом, изменения чувствительности мАЦ к гормонам, активирующим фермент, которые обнаружены нами при повышении доли под-

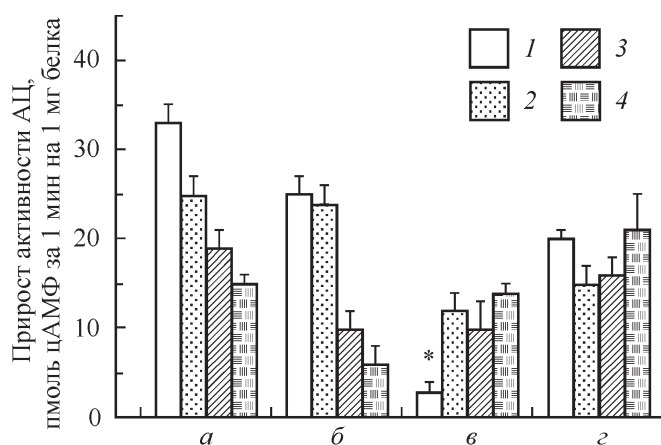


Рис. 1. Стимулирующее влияние гормонов на базальную активность АЦ в группах эякулированных сперматозоидов человека с различной долей их подвижных форм.

По горизонтали: а — изопротеренол, б — норадреналин, в — серотонин (все — 10⁻⁵ М), г — PACAP-38, 10⁻⁶ М. 1—4 — группы сперматозоидов. По вертикали — прирост активности АЦ над уровнем базальной активности фермента, пмоль цАМФ за 1 мин на 1 мг белка. Различия между базальной и стимулированной активностью АЦ достоверны при $P < 0.05$, за исключением случая, обозначенного звездочкой.

вижных сперматозоидов, характеризуются отчетливо выраженной гормональной специфичностью, что указывает на различную роль изученных гормонов в регуляции цАМФ-зависимых сигнальных каскадов у высоко- и малоподвижных форм сперматозоидов.

При исследовании ингибирующего АЦ действия норадреналина и серотонина, которое оценивалось по их влиянию на стимулированную форсколином активность фермента, были получены следующие результаты. В группе 1 с низкой долей подвижных сперматозоидов ингибирование АЦ обоими биогенными аминами было отчетливо выражено, причем ингибирующий эффект норадреналина был намного больше такового серотонина (рис. 2). В группе 4 с высокой долей подвижных сперматозоидов ингибирующий АЦ эффект норадреналина сни-

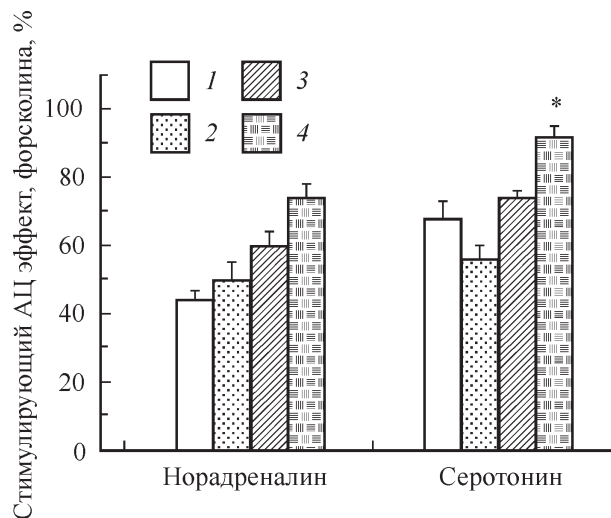


Рис. 2. Ингибирующее влияние норадреналина и серотонина на активность АЦ, стимулированную форсколином, в группах эякулированных сперматозоидов с различной долей их подвижных форм.

1—4 — группы сперматозоидов. По вертикали — стимулирующее действие форсколина (10⁻⁵ М) на АЦ; за 100 % принято действие в отсутствие гормонов; концентрация гормона 10⁻⁵ М. Различия между стимулированной форсколином активностью АЦ в отсутствие и в присутствии гормонов достоверны при $P < 0.05$, за исключением случая, обозначенного звездочкой.

Таблица 3

Базальная и стимулированная катионами марганца и натрийуретическими пептидами активность ГЦ в гомогенатах эякулированных сперматозоидов с различной долей подвижных форм

Группа сперматозоидов	Базальная	Mn ²⁺ , 10 мМ	ANP, 10 ⁻⁷ М	CNP, 10 ⁻⁷ М
Активность ГЦ, пмоль цГМФ за 1 мин на 1 мг белка				
1	32 ± 2	71 ± 5 (39)	57 ± 4 (25)	67 ± 4 (35)
2	25 ± 3	59 ± 3 (34)	61 ± 3 (36)	47 ± 4 (22)
3	28 ± 3	88 ± 3 (60)	52 ± 1 (24)	41 ± 2 (13)
4	33 ± 3	153 ± 4 (120)	64 ± 2 (31)	45 ± 3 (12)

Примечание. В скобках указана величина прироста стимулированной негормональными агентами и гормонами активности ГЦ над базальным уровнем ее активности (в пмоль цГМФ за 1 мин на 1 мг белка).

жался и составил 40 % от такового в группе 1, в то время как соответствующий эффект серотонина не выявлялся. Эти данные указывают на то, что высокоподвижные сперматозоиды менее чувствительны к гормонам, действующим через сопряженные с G_i-белками рецепторы: α₂-АР в случае норадреналина и серотониновые рецепторы 1-го типа в случае серотонина.

Базальная активность ГЦ в исследуемых группах сперматозоидов достоверно не различалась, в то время как ее стимуляция катионами марганца (10 мМ) была в наибольшей степени выражена в группе 4 (табл. 3). Так, прирост активности ГЦ, вызываемый обработкой Mn²⁺, в этой группе был в 2 раза выше, чем в группе 3 с сопоставимым содержанием подвижных сперматозоидов, и в 3—3.5 раза выше, чем в группах 1 и 2 с низким содержанием подвижных сперматозоидов. В случае стимуляции активности ГЦ натрийуретическими пептидами картина была следующей. Стимулирующие ГЦ эффекты ANP существенно не менялись в различных группах сперматозоидов, в то время как соответствующие эффекты CNP в группах 1 и 2 сперматозоидов были существенно выше, чем в группах 3 и 4. Так, прирост активности ГЦ, вызываемый CNP (10⁻⁷ М), в группе 1 почти втрое превосходил таковой в группах 3 и 4 (табл. 3). Таким образом, при повышении доли подвижных сперматозоидов в эякуляте стимуляция базальной активности ГЦ катионами марганца возрастала, стимулирующее действие ANP менялось слабо, в то время как действие CNP, напротив, в значительной степени ослабевало.

Обсуждение

Полученные нами данные указывают на то, что эякуляты сперматозоидов человека с различной долей их подвижных форм различаются по функциональной активности АЦ и ГЦ, в том числе по их чувствительности к гормональным и негормональным агентам. Это подтверждает данные других авторов о том, что существует взаимосвязь между функционированием цАМФ- и цГМФ-зависимых сигнальных каскадов в сперматозоидах, с одной стороны, и их подвижностью, хемотактической активностью и способностью к капацитации — с другой (Adeoya-Osiguwa et al., 2006; Breitbart et al., 2006; Zhang et al., 2006; Bailey, 2010; Fujinoki, 2011).

Наиболее важную роль в контроле подвижности сперматозоидов играет цАЦ, активность которой повышается в присутствии бикарбонатных анионов и катионов марганца, но не меняется при действии гормональных агентов (Bailey, 2010). Показано, что нокаут гена, кодирующего цАЦ, в сперматозоидах мыши вызывает значительное снижение уровня внутриклеточного цАМФ в эякуляте и в очищенных эякулированных сперматозоидах, что приводит к утрате ими подвижности и как следствие к потере способности к оплодотворению яйцеклетки (Esposito et al., 2004; Xie et al., 2006). Добавление HCO₃⁻, активатора цАЦ, который является мощным стимулятором поступательного движения сперматозоидов, не влияет на подвижность и оплодотворяющую способность сперматозоидов, лишенных цАЦ. При этом негидролиземый аналог цАМФ усиливает частоту биения жгутиков сперматозоидов как у контрольных мышей, так и у животных, нокаутных по гену, кодирующему цАЦ (Esposito et al., 2004). Эти данные, с одной стороны, указывают на определяющую роль внутриклеточного цАМФ в обеспечении двигательной активности сперматозоидов и — с другой, свидетельствуют о том, что синтез основного пула этого циклического нуклеотида катализируется цитозольными формами АЦ.

Выявленное нами возрастание базальной активности АЦ у высокоподвижных сперматозоидов, как мы полагаем, также связано с повышением активности цАЦ. В пользу этого говорят следующие факты. Чувствительность АЦ к активаторам цАЦ, таким как гидрокарбонатные анионы и катионы марганца, в значительной степени возрастает при повышении доли подвижных сперматозоидов в исследуемых образцах. В группах 3 и 4 эякулятов с высокой долей подвижных сперматозоидов стимулирующее АЦ действие HCO₃⁻ и Mn²⁺ существенно превосходит действие форсколина и GppNHp, негормональных регуляторов мАЦ. Так, в группе 4 прирост активности АЦ, вызванный обработкой 50 мМ NaHCO₃, превышает действие форсколина и GppNHp в 2.5 и 5 раз соответственно, в то время как прирост активности фермента, вызванный обработкой 5 мМ Mn²⁺, выше прироста в случае форсколина и GppNHp в 3.5 и 7 раз соответственно (табл. 2). В группе 1 с низкой долей подвижных сперматозоидов различия между эффектами активаторов цАЦ и мАЦ не столь выражены или отсутствуют вовсе. Следует отметить, что действие на АЦ активаторов мАЦ (форсколина, GppNHp, лигандов AP и PACAP-38) при повышении доли подвижных сперматозоидов снижается или не меняется.

Предполагается, что мАЦ в основном контролирует процессы созревания и капацитации сперматозоидов. В пользу этого свидетельствуют как наши результаты, так и данные других авторов. Так, обработка форсколином сперматозоидов мыши приводит к повышению активности мАЦ и возрастанию уровня внутриклеточного цАМФ, вследствие чего запускается процесс капацитации, причем 2',5'-дидезоксиаденозин, специфичный ингибитор локализованного в молекуле мАЦ Р-сайта, подавляет этот эффект форсколина (Baxendale, Frazer, 2003; Fraser et al., 2005). Обработка некапацитированных сперматозоидов холерным токсином, который перманентно активирует α-субъединицу G_s-белка и вызывает многократное повышение уровня цАМФ, также инициирует капацитацию (Adeoya-Osiguwa, Fraser, 2000). При этом на высокоподвижные сперматозоиды, уже подвергнувшиеся капацитации, холерный токсин практически не действу-

ет, что может указывать на снижение функциональной активности G_s -белков при повышении подвижности сперматозоидов. В пользу снижения функций G_s -белков у высокоподвижных сперматозоидов свидетельствуют и наши данные об ослаблении стимулирующих эффектов форсколина, GppNHp, изопротеренола и норадреналина на активность АЦ в группах 3 и 4 с высокой долей подвижных сперматозоидов. Нами также обнаружено значительное ослабление в группах 3 и 4 ингибирующего действия на АЦ норадреналина и серотонина, что говорит о снижении функциональной активности сопряженной с G_i -белками АЦ-системы в образцах, обогащенных подвижными сперматозоидами.

Ранее нами и другими авторами с помощью биохимических и молекулярно-биологических подходов было показано, что в эякулированных сперматозоидах имеются рецепторы к ряду гормонов, стимулирующих мАЦ через посредство G_s -белков, в том числе к лигандам AP, серотонину и PACAP-38 (Arimura, 1992; Naz, Sellamuthu, 2006; Fujinoki, 2011; Taniï et al., 2011; Шпаков и др., 2013). Однако функции гормонов, активаторов мАЦ, различаются. Так, при изучении сперматозоидов мыши показано, что лиганды β -AP, в том числе их неселективный агонист катин, в большей степени действуют на малоподвижные, некапацитированные, формы сперматозоидов, в то время как высокоподвижные, капацитированные, формы к ним мало чувствительны (Adeoya-Osiguwa, Fraser, 2007). Это согласуется с результатами настоящего исследования, в котором показано, что стимулирующие АЦ эффекты β -AP агонистов изопротеренола и норадреналина в значительной степени снижены при повышении доли подвижных форм сперматозоидов в эякуляте. В то же время действие пептидного гормона PACAP-38 на АЦ в группах 1 и 4 с низкой и высокой долями подвижных сперматозоидов было сопоставимо по величине и лишь незначительно снижено в группах 2 и 3 с промежуточными значениями содержания подвижных их форм. В этой связи следует отметить, что рецепторы для PACAP-38 обнаружены как в сперматогониях, так и в зрелых сперматозоидах, причем наибольшая их плотность сосредоточена в акросомальной области, что указывает на роль PACAP-38 в хемотаксисе и развитии акросомальной реакции (Arimura, 1992; Taniï et al., 2011).

Имеются данные о том, что PACAP—38 не только стимулирует акросомальную реакцию, но и повышает подвижность сперматозоидов и усиливает их проникновение через zona pellucida, которая окружает ооцит, что в конечном итоге приводит к повышению фертильности спермы (Taniï et al., 2011). При этом повышается оплодотворяющая способность сперматозоидов с изначально низкими показателями подвижности. Можно предположить, что действие PACAP-38 реализуется на различных этапах созревания сперматозоидов, и даже после завершения процесса капацитации этот гормон продолжает выполнять свои регуляторные функции, вплоть до оплодотворения яйцеклетки. Вследствие этого неудивительно, что в эякулятах с различной долей подвижных форм сперматозоидов чувствительность мАЦ к PACAP-38 меняется незначительно.

В отношении регуляции мАЦ сперматозоидов серотонином и агонистами серотониновых рецепторов данные в литературе отсутствуют. Имеется лишь одно сообщение, авторы которого показали, что агонисты серотониновых рецепторов 4-го типа, которые функционально сопряжены с АЦ через посредство G_s -белков, повышают

подвижность сперматозоидов хомяка, в то время как селективные антагонисты этих рецепторов, напротив, ее снижают (Fujinoki, 2011). Нами показано, что стимуляция АЦ серотонином в эякулятах с высокой долей подвижных сперматозоидов усиливается. Иная ситуация наблюдалась для ингибирующего действия гормона. В группе 4 с высокой долей подвижных сперматозоидов ингибирующее действие серотонина, осуществляемое через сопряженные с G_i -белками серотониновые рецепторы 1-го типа, отсутствовало, в то время как в группах 1—3 серотонин снижал действие форсколина на АЦ на 25—42%. Эти данные указывают на то, что в случае сперматозоидов с низкой подвижностью наиболее выражено ингибирующее влияние серотонина на АЦ, а в случае сперматозоидов с высокой подвижностью выявляется его стимулирующее влияние.

Нами показано, что регуляторные свойства ГЦ в эякулятах сперматозоидов человека с различной долей их подвижных форм различаются, хотя базальный уровень активности ГЦ при этом меняется незначительно. Повышение доли подвижных сперматозоидов приводит к усилению стимулирующего ГЦ действия катионов марганца, которое реализуется в основном через цГЦ, и к ослаблению соответствующего эффекта CNP, действующего на рГЦ. В то же время стимулирующий ГЦ эффект ANP практически не зависит от доли подвижных сперматозоидов в эякуляте. Следует отметить, что если в группе 1 прирост активности ГЦ, вызванный CNP, был на 40% выше такового ANP, то в группах 3 и 4 с высокой долей подвижных сперматозоидов он был в 2—3 раза ниже такового, вызванного ANP.

Таким образом, сперматозоиды с низкой подвижностью более чувствительны к CNP, в то время как сперматозоиды с высокой подвижностью — к ANP. Это может быть связано с тем, что в сперматозоидах с высокой подвижностью снижается содержание рецепторных форм ГЦ В-типа, которые с высокой аффинностью связываются с CNP, в то время как содержание рГЦ А-типа, рецептора для ANP, при изменении доли подвижных сперматозоидов существенно не меняется. В пользу преобладания в подвижных сперматозоидах рГЦ А-типа над рГЦ В-типа и более выраженного регуляторного эффекта ANP в сравнении с CNP свидетельствуют данные, полученные ранее нами и другими авторами при изучении сперматозоидов свиньи и человека (Zhang et al., 2006; Шпаков и др., 2013). Можно предположить, что между способностью к направленному движению сперматозоидов и их чувствительностью к ANP, который, как показано рядом авторов, участвует в регуляции хемотаксиса и акросомальной реакции (Zamir et al., 1995; Rotem et al., 1998; Bian et al., 2012), нет прямой зависимости. Высокая плотность рецепторов к ANP является необходимым, но недостаточным условием для хемотаксической активности сперматозоидов, поскольку дефектные и малоподвижные их формы даже при наличии рГЦ А-типа и высокой чувствительности к ANP не способны к эффективному хемотаксису и оплодотворению яйцеклетки. В отношении CNP сведения, касающиеся его роли в процессе созревания сперматозоидов и регуляции их хемотаксиса, отсутствуют (Willipinski-Stapelfeldt et al., 2004; Bian et al., 2012). Обнаружение отчетливого стимулирующего влияния CNP на активность ГЦ в эякулятах с низкой долей подвижных сперматозоидов открывает возможности для изучения потенциальной роли CNP в контроле за сперматогенезом и фертильностью.

В отношении растворимых форм ГЦ доказано их участие в регуляции подвижности сперматозоидов, и высказано предположение о том, что цГЦ в сперматозоидах с разной подвижностью различаются своей активностью и регуляторными свойствами (Miraglia et al., 2007, 2011). Полученные нами данные об усилении стимуляции ГЦ катионами марганца, активирующими преимущественно цГЦ, в эякулятах с высокой долей подвижных сперматозоидов подтверждают это предположение. В пользу важной роли цГЦ в регуляции подвижности и хемотаксиса сперматозоидов свидетельствуют результаты других авторов, которые показали, что уже через 30—90 мин инкубации с S-нитрозоглутатионом — донором оксида азота — в сперматозоидах повышается уровень цГМФ, возрастает концентрация их высокоподвижных форм с быстрым поступательным движением, а также на 30—35 % возрастают прямая линейная скорость и средняя скорость их движения (Miraglia et al., 2011). Эффект S-нитрозоглутатиона на подвижность сперматозоидов полностью подавляется специфичным ингибитором цГЦ 1*H*-[1,2,4]оксадиазол-[4,3-*a*]хиноксалин-1-оном и, напротив, воспроизводится при добавлении проникающего через мембрану аналога цГМФ — 8-бром-цГМФ. Следует отметить, что цГЦ и функционально связанная с ней цГМФ-зависимая фосфодиэстераза сперматозоидов могут активироваться прогестероном, который секретируется кумулюсными клетками, окружающими ооцит, причем молекулярные механизмы действия прогестерона на цГЦ включают цАМФ-зависимые сигнальные каскады (Teves et al., 2009).

Таким образом, впервые обнаружены различия в функциональной активности и регуляторных свойствах ферментов с циклазной активностью — АЦ и ГЦ — в образцах эякулированных сперматозоидов человека, различающихся по содержанию их подвижных форм и, следовательно, по фертильности. Полученные нами данные показывают, что в эякулятах с более высокой долей подвижных сперматозоидов повышены как базальная активность АЦ, так и ее чувствительность к активаторам цитозольных форм фермента — бикарбонатным анионам и катионам марганца. Регуляторные эффекты форсколина, GppNHp и агонистов AP, действующих на мАЦ, в эякулятах с высокой долей подвижных сперматозоидов, напротив, снижались, что указывает на более высокую чувствительность к ним сперматозоидов с низкой подвижностью. Установлено также, что цитозольные формы ГЦ в эякулятах с высокой долей подвижных сперматозоидов более чувствительны к регуляторному действию катионов марганца, хотя базальная активность ГЦ при этом меняется незначительно. С повышением доли подвижных сперматозоидов снижается чувствительность рГЦ к CNP при сохранении таковой к ANP, что приводит к изменению паттерна регуляции фермента натрийуретическими пептидами в пользу ANP, контролирующего хемотаксис сперматозоидов. Поскольку гормональные и негормональные вещества, действующие на АЦ и ГЦ, регулируют созревание и фертильность сперматозоидов, обнаружение чувствительности к ним эякулятов с низкой долей подвижных форм сперматозоидов представляется закономерным, а сами эти вещества могут быть использованы для завершения процесса созревания, стимуляции капацитации и повышения фертильности семенной плазмы. Применение активаторов цАЦ и цГЦ в свою очередь может быть использовано для стимуляции поступательного направленного движения сперматозоидов, а также

для контроля за хемотаксисом, акросомальной реакцией и другими процессами, определяющими фертильность мужских половых клеток.

Исследование проводилось при финансовой поддержке Министерства образования и науки, соглашение № 8486.

Список литературы

- Шпаков А. О., Деркач К. В., Грязнов А. Ю., Мотовилова Н. О. 2013. Регуляторные свойства аденилатциклазы и гуанилатциклазы в сперматозоидах человека. Журн. эволюц. биохим. физиол. 49 (1) : 30—38.
- Шпаков А. О., Чистякова О. В., Деркач К. В., Мойсеев И. В., Бондарева В. М. 2011. Активность рецепторных гуанилатциклаз у крыс с неонатальным стрептозоточиновым диабетом и влияние на нее интраназального введения инсулина и серотонина. Цитология. 53 (7) : 591—599.
- Adeoya-Osiguwa S. A., Fraser L. R. 2000. Fertilization promoting peptide and adenosine, acting as first messengers, regulate cAMP production and consequent protein tyrosine phosphorylation in a capacitation-dependent manner. Mol. Reprod. Develop. 57 : 384—392.
- Adeoya-Osiguwa S. A., Fraser L. R. 2007. Cathine, an amphetamine-related compound, acts on mammalian spermatozoa via β_1 - and α_2 -adrenergic receptors in a capacitation state-dependent manner. Hum. Reprod. 22 : 756—765.
- Adeoya-Osiguwa S. A., Gibbons R., Fraser L. R. 2006. Identification of functional α_2 - and β -adrenergic receptors in mammalian spermatozoa. Hum. Reprod. 21 : 1555—1563.
- Anderson R. A., Feathergill K. A., Chany C. J., Jain S., Krunic A. 2009. Nitric oxide-dependent human acrosomal loss induced by PPCM (SAMMA) and by nitric oxide donors occurs by independent pathways: basis for synthesis of an improved contraceptive microbicide. J. Androl. 30 : 168—182.
- Arimura A. 1992. Receptors for pituitary adenylyl cyclase-activating polypeptide: comparison with vasoactive intestinal peptide receptors. Trends Endocrinol. Metab. 3 : 288—294.
- Bailey J. L. 2010. Factors regulating sperm capacitation. Syst. Biol. Reprod. Med. 56 : 334—348.
- Baxendale R. W., Fraser L. R. 2003. Evidence for multiple distinctly localized adenylyl cyclase isoforms in mammalian spermatozoa. Mol. Reprod. Develop. 66 : 181—189.
- Bian F., Mao G., Guo M., Mao G., Wang J., Li J., Han Y., Chen X., Zhang M., Xia G. 2012. Gradients of natriuretic peptide precursor A (NPPA) in oviduct and of natriuretic peptide receptor 1 (NPR1) in spermatozoon are involved in mouse sperm chemotaxis and fertilization. J. Cell. Physiol. 227 : 2230—2239.
- Breitbart H., Rubinstein S., Etkovitz N. 2006. Sperm capacitation is regulated by the crosstalk between protein kinase A and C. Mol. Cell. Endocrinol. 252 : 247—249.
- Brewis I. A., Moore H. D., Fraser L. R., Holt W. V., Baldi E., Lucioni M., Gadella B. M., Ford W. C., Harrison R. A. 2005. Molecular mechanisms during sperm capacitation. Hum. Fertil. 8 : 253—261.
- Esposito G., Jaiswal B. S., Xie F., Krajnc-Franken M. A., Robben T. J., Strik A. M., Kuil C., Philipsen R. L., van Duin M., Conti M., Gossen J. A. 2004. Mice deficient for soluble adenylyl cyclase are infertile because of a severe sperm-motility defect. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 101 : 2993—2998.
- Fraser L. R., Adeoya-Jsiguwa S., Baxendale R. W., Mededovic S., Osiguwa O. O. 2005. First messenger regulation of mammalian sperm function via adenylyl cyclase/cAMP. J. Reprod. Develop. 51 : 37—46.
- Fujinoki M. 2011. Serotonin-enhanced hyperactivation of hamster sperm. Reproduction. 142 : 255—266.
- Guraya S. S. 2000. Cellular and molecular biology of capacitation and acrosome reaction in spermatozoa. Int. Rev. Cytol. 199 : 1—64.

Miraglia E., De Angelis F., Gazzano E., Hassanpour H., Bertagna A., Aldieri E., Revelli A., Ghigo D. 2011. Nitric oxide stimulates human sperm motility via activation of the cyclic GMP/protein kinase G signaling pathway. *Reproduction*. 141 : 47—54.

Miraglia E., Rullo M. L., Bosia A., Massobrio M., Revelli A., Ghigo D. 2007. Stimulation of the nitric oxide/cyclic guanosine monophosphate signaling pathway elicits human sperm chemotaxis *in vitro*. *Fertil. Steril.* 87 : 1059—1063.

Naz R. K., Sellamuthu R. 2006. Receptors in Spermatozoa: are they real? *J. Androl.* 27 : 627—636.

Revelli A., Ghigo D., Moffa F., Massobrio M., Tur-Kaspa I. 2002. Guanylate cyclase activity and sperm function. *Endocrinol. Rev.* 23 : 484—494.

Rotem R., Zamir N., Keynan N., Barkan D., Breitbart H., Naor Z. 1998. Atrial natriuretic peptide induces acrosomal exocytosis of human spermatozoa. *Amer. J. Physiol.* 274 : E218—E223.

Shpakov A. O., Shpakova E. A., Tarasenko I. I., Derkach K. V., Vlasov G. P. 2010. The peptides mimicking the third intracellular loop of 5-hydroxytryptamine receptors of the types 1B and 6 selectively activate G proteins and receptor-specifically inhibit serotonin signaling via the adenylyl cyclase system. *Int. J. Pept. Res. Ther.* 16 : 95—105.

Silvestroni L., Palleschi S., Guglielmi R., Tosti Croce C. 1992. Identification and localization of atrial natriuretic factor receptors in human spermatozoa. *Arch. Androl.* 28 : 275—282.

Tanii I., Aradate T., Matsuda K., Komiya A., Fuse H. 2011. PACAP-mediated sperm-cumulus cell interaction promotes fertilization. *Reproduction*. 141 : 163—171.

Teves M. E., Guidobaldi H. A., Uñates D. R., Sanchez R., Miska W., Publicover S. J., Morales Garcia A. A., Giojalas L. C. 2009. Molecular mechanism for human sperm chemotaxis mediated by progesterone. *PLoS One*. 4 : e8211.

WHO Laboratory Manual for the examination and processing of human semen. 2010. 5th ed. Geneva, Switzerland: World Health Organization Press. 100—101. http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241547789_eng.pdf.

WHO Laboratory Manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. 2003. 4th ed. Cambridge, United Kingdom: Published on behalf of the WHO by Cambridge University Press. 9—10. <http://www.scribd.com/doc/33686268/WHO-Laboratory-Manual-for-SEMEN-4ed-1999-2003>.

Willipinski-Stapelfeldt B., Lübberstedt J., Stelter S., Vogt K., Mukhopadhyay A. K., Müller D. 2004. Comparative analysis between cyclic GMP and cyclic AMP signalling in human sperm. *Mol. Hum. Reprod.* 10 : 543—552.

Xie F., Garcia M. A., Carlson A. E., Schuh S. M., Babcock D. F., Jaiswal B. S., Gossen J. A., Esposito G., van Duin M., Conti M. 2006. Soluble adenylyl cyclase (sAC) is indispensable for sperm function and fertilization. *Develop. Biol.* 296 : 353—362.

Zamir N., Barkan D., Keynan N., Naor Z., Breitbart H. 1995. Atrial natriuretic peptide induces acrosomal exocytosis in bovine spermatozoa. *Amer. J. Physiol.* 269 : E216—E221.

Zhang M., Hong H., Zhou B., Jin S., Wang C., Fu M., Wang S., Xia G. 2006. The expression of atrial natriuretic peptide in the oviduct and its functions in pig spermatozoa. *J. Endocrinol.* 189 : 493—507.

Поступила 11 IX 2012

FUNCTIONAL ACTIVITY OF ADENYLYL AND GUANYLYL CYCLASES IN HUMAN SPERMATOZOA WITH DIFFERENT MOTILITY

K. V. Derkach,¹ A. O. Shpakov,¹ A. Yu. Gryaznov²

¹ I. M. Sechenov Institute Evolutionary Physiology and Biochemistry RAS
and ² Women's Consultation № 44, Center for Family Planning, St. Petersburg;
e-mail: alex_shpakov@list.ru

The most important functional characteristics of ejaculated spermatozoa is their ability to directional sustained movement that to a large extent determines their fertility. It is assumed that the enzymes with cyclase activity — adenylyl cyclase (AC) and guanylyl cyclase (GC), soluble and membrane-bound forms of which are found in human and mammalian sperm, play a key role in the regulation of motility. However, the functional activity of the cyclases in ejaculated spermatozoa with different motility and their contribution to the regulation of this process is virtually unexplored. The aim of this work was the functional characteristics of AC and GC in human sperm ejaculates with different content of motile forms of spermatozoa, and the study of regulation of these enzymes by hormones and non-hormonal agents. We found the differences in the activity and regulatory properties of AC and GC in the ejaculates differing in the content of motile forms of sperm. The basal AC activity and its sensitivity to bicarbonate anion and manganese cations, activators of cytosolic AC (cAC), were increased in ejaculates with a high proportion of motile spermatozoa. At the same time, AC effect of forskolin, GppNHp and adrenergic receptor agonists acting via membrane-bound AC (mAC) were significantly reduced in this case. Cytosolic GC in the ejaculates with a high proportion of motile spermatozoa was more sensitive to manganese cations, but the basal activity of GCs was altered slightly. The increase in the content of motile spermatozoa in the ejaculates led to decrease in the sensitivity of receptor GC to CNP, while the sensitivity to ANP was maintained, which indicated a change in the pattern of enzyme regulation with natriuretic peptides in favor of ANP, an important regulator of sperm chemotaxis. Thus, we have concluded that the change in the proportion of motile spermatozoa in the ejaculate induces changes in the functional activity and regulatory properties of soluble and membrane-bound forms of AC and GC, which can be used to control the motility, chemotaxis, acrosomal reaction and other processes determining the fertility of male germ cells.

Key words: adenylyl cyclase, adrenergic receptor, guanylyl cyclase, natriuretic peptide, motility, spermatozoa.