

УДК 612.616.2:616.153.96

ПРОТЕОГЛИКАНЫ МУЖСКОЙ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ**Ветошкин Р.В., Николаев А.А.***ГОУ ВПО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, Астрахань, e-mail: chimnik@mail.ru*

Обзор современного состояния знаний о строении, свойствах протеогликанов семенной плазмы. Рассмотрены вопросы синтеза, строения углеводной и белковой части протеогликанов семенной плазмы. Подробно описана семья секреторных белков семенной плазмы – спермадгезинов. Эти многофункциональные белки содержат сульфатированные гликозаминогликаны и способны связывать фосфолипиды и ингибиторы протеаз. Приведены данные о том, что свободный от гепарина, белковый фрагмент спермадгезина и гепаринсвязанный спермадгезин оказывают антагонистическое влияние на функциональность сперматозоидов. Описаны механизмы взаимодействия протеогликанов семенной плазмы и их компонентов с поверхностью сперматозоидов. Отдельно освещен вопрос об участии протеогликанов семенной плазмы в капацитации сперматозоидов и их влиянии на оплодотворяющую способность сперматозоидов. Продемонстрировано, что гиалуроновая кислота улучшает скорость и сохранение подвижности сперматозоидов. Использование гиалуроновой кислоты, вероятно, окажется выгодным в развитии вспомогательных репродуктивных технологий: во внутриматочном оплодотворении и в экстракорпоральном оплодотворении (IVF).

Ключевые слова: протеогликаны, семенная плазма, сперматозоиды, капацитация

PROTEOGLYCANS OF THE MALE REPRODUCTIVE SYSTEM**Vetoshkin R.V., Nikolaev A.A.***Astrakhan State medical University of Ministry of health of Russia, Astrakhan, e-mail: chimnik@mail.ru*

A review of the current state of knowledge about the structure, properties proteoglycans seminal plasma. The problems of the synthesis, the structure of the carbohydrate and the protein part of proteoglycans seminal plasma. Described a family of secretory proteins seminal plasma – Spermadhesins. These multifunctional proteins that contain sulfated glycosaminoglycans and is able to bind phospholipids and protease inhibitors. The data that is free from heparin, protein fragment spermadhesins and heparinases spermadhesins have an antagonistic effect on the functionality of the sperm. Describes the mechanisms of interaction of proteoglycans seminal plasma and their components with the surface of sperm. Separately, covered the issue will cause the proteoglycans of seminal plasma in sperm capacitation their impact on the fertilizing ability of spermatozoa. Demonstrated that hyaluronic acid improves the speed and preservation of sperm motility. The use of hyaluronic acid is likely to prove beneficial in the development of assisted reproductive technologies: in intrauterine insemination and in vitro fertilization (IVF).

Keywords: proteoglycans, seminal plasma, sperm, capacitate

Протеогликаны выполняют не только структурные и гидродинамические функции в тканях, но также и участвуют в различных регулирующих эффектах [31]. В яичке перитубулярные клетки и клетки Sertoli, синтезируют в культуре различные компоненты экстрацеллюлярного матрикса [42]. Последний в свою очередь регулирует формирование тестикулярного шнура и развитие половых клеток *in vitro*. Было предположено, что синтез некоторых из его компонентов, а именно протеогликанов, играет активную роль в сперматогенезе. Соматические клетки яичка крысы синтезируют два типа протеогликанов: один содержащий гепаран/хондроитин, другой хондроитин/дерматан сульфат в качестве гликозаминогликановых цепей [37]. Протеогликаны перитубулярных клеток и клеток Sertoli крысы были частично охарактеризованы, но главным образом исследованы цепи гликозаминогликанов. Семенная плазма содержит высокие концентрации протео-

гликанов, в среднем 0,8 мг/Мл, и примерно на 70% состоит из крупных хондроитин-сульфат-протеогликанов, и на 30% гепаран-хондроитин-сульфат протеогликанов. Отрицательная корреляция наблюдается между числом патологических форм сперматозоидов хондроитин-сульфат-протеогликанов ($r = -0,43$), и гиалуроновой кислотой ($r = -0,56$). Процент оплодотворения ооцитов *in vitro* был достоверно выше при концентрациях протеогликанов от 0,64 мг/мл и выше [11]. Исследований, посвященных молекулярной характеристике белковой части протеогликанов, присутствующих в семенной плазме, существует очень мало. А вопросу синтеза и продукции протеогликанов в семенную плазму посвящено только одно исследование, в котором определяли один из ключевых ферментов синтеза гликозаминогликанов ксилотрансферазу (EC 2.4.2.26, XT) [12]. Уровень ксилотрансферазы является для большинства тканей показателем активности синтеза

протеогликанов. Принципиально важно, что в семенной плазме обнаружен этот фермент. Это свидетельствует о самостоятельном синтезе протеогликанов в мужской репродуктивной системе. Наибольшая активность этого фермента отмечена в секрете семенных пузырьков. Значительная роль синтезируемых протеогликанов в обеспечении функции оплодотворения подтверждается снижением практически в 2 раза (от 3,21 мU/л у фертильных мужчин до 1,53 мU/л у инфертильных) активности ксилозилтрансферазы. Впервые сообщили о существовании в семенной плазме быка белка, связанного с гепарином, Miller DJ et al [23] и Chandonnet L. et al [7]. А затем были подробно описаны методы очистки этого белка, его аминокислотный состав места дисульфидных связей, места O-гликозилирования и N-концевую последовательность (Глицин-аспарат-изолейцин) [4]. BSP-30K состоит из 158 аминокислот и шести остатков треонина с O-гликозилированием. BSP-30K – главный кислый гликопротеин бычьей семенной плазмы. BSP-30K связывается со сперматозоидами после эякуляции и играет роль в капацитации спермы. Позднее этот белок получил название спермадгезин. Оригинальные heparin-содержащие белки семенной плазмы свиней pB1 и лошадей HSP-1 и HSP-2 [3] принадлежат той же самой семье, что и белки быка BSP-A1/2, BSP-A3, и BSP-30K. Была определена последовательность аминокислот и постраниционные модификации протеогликана бора pB1. Он содержит 105 аминокислот, включающих полипептид с 18 остатками O-гликозилирования, а также содержит область, подобную 45 аминокислотных остатков фибронектина. Аминокислотная последовательность pB1 на 60–65% подобна последовательности аминокислот конским и бычьим гомологам. Однако в отличие от BSP и HSP, которые образуют олигомерные комплексы размером в 90–150 kDa, pB1 формирует комплекс 35–40 kDa со спермадгезином. Эти результаты подтверждают гипотезу [20], что соответствующие тканевые протеогликанов от различных разновидностей млекопитающих могут показать большую гомологию и сходство биологического действия, чем протеогликанов разных тканей одного вида животных.

Семья секреторных белков – спермадгезины синтезируется в мужских половых органах свиньи, лошади и быка. Они являются основными продуктами семенной плазмы и оказались отчасти связанными с поверхностью сперматозоидов. Структура спермадгезинов была тщательно исследована и содержит Гал бета(1-3)-GalNAc

и Гал бета(1-4)-GlcNAc последовательно в O-связи, и N-связи с гликозаминогликанами. Это многофункциональные белки, содержат сульфатированные гликозаминогликаны и способны связывать фосфолипиды и ингибиторы протеаз. Предполагается, что они могут быть задействованы на различных этапах оплодотворения. Показано, что эти протеогликанов образуют защитный слой вокруг акросомы головки сперматозоида, возможно предотвращая преждевременную акросомальную реакцию. Они также вносят вклад в первоначальное связывание и узнавание между сперматозоидом и яйцеклеткой. Аминокислотная последовательность спермадгезинов не показывает заметного сходства с известными коровыми белками протеогликанов [40, 41].

Методом двумерного электрофореза в полиакриламидном геле [39] охарактеризован и затем очищен новый белковый компонент семейства спермадгезинов, состоящий из двух 13 kDa субъединиц, связанных дисульфидными связями. Белок получил название Z13 и определена его полная первичная структура и локализация S-S связи. Показана гомология аминокислотной последовательности N-конца с известным протеогликаном фибромодулином.

Из яичек быка был выделен протеогликан [1], получивший название тестикан. Его белковая часть была очищена и охарактеризована. Она включает несколько доменов, встречающихся в различных белках (фактор роста нервов, фибромодулин, фактор миграции В и остеоонектин), а также уникальную последовательность из 46 аминокислот, в которой каждая 3-я аминокислота триптофан. Авторы считают, что тестикан является предшественником ранее описанного гепаран-хондроитин-сульфат протеогликана семенной плазмы быка спермадгезина. Позднее тестикан и его аналоги были выявлены в ткани мозга и в настоящее время широко изучаются специалистами в области нейрохимии [15, 19].

Методами генной инженерии [5] получены рекомбинантные клоны клеток для синтеза спермадгезина козла (*Capra hircus*) и синтезирован белок с молекулярной массой 15,5 Кда, иммунохимически идентичный спермадгезину.

Имеются сообщения [35] о выделении из семенной жидкости крупного рогатого скота после дегликозилирования белковой фракции кислого полипептида с молекулярной массой 12,9 Кда, получившего название aSFP. Авторы относят этот белок к семейству спермадгезинов на том основании, что структура aSFP содержит домены, идентичные ранее описанному коровому белку

BSP 30, особое сходство характерно для гидрофобного ядра белка.

Из бычьей семенной плазмы методами аффинной хроматографии выделили группу гепарин связывающих белков [10], которые при электрофорезе в SDS-полиакриламидном геле разделились на 8 фракций с молекулярной массой от 19 до 72 kDa. Исследование выделенных белков на активность отмытых сперматозоидов в тесте пенетрации слизи (BCMPT) показало достоверное увеличение функциональной активности сперматозоидов, а также повышение их устойчивости в гипоосмолярном тесте. Исследования по функциональной роли гепарин-связывающих белков установили их способность (фракции 18 и 24 kDa) связываться с бычьими сперматозоидами, причем только с эякулированными, но не со сперматозоидами, добытыми из придатка яичка [24]. Эти же авторы [25] показали способность гепарин-связывающих белков (фракции 24 и 31 kDa) инициировать капацитацию.

Гепарин-связывающие компоненты семенной плазмы человека были выделены на иммобилизованном гепарине а затем разделены на 12 фракций (HB1-HB12) HPLC [22, 23]. N-концевая последовательность глицин-аспартат-изолейцин совпала с спермадгезином и сосредоточена во фракции HB2 и соответствует мол. массе в 14 kDa. Среди других фракций иммунохимически идентифицированы простатическая кислая фосфатаза (HB7) и лактоферрин (HB11). Для высокомолекулярных гепарин-связывающих белков была исследована специфичность центра связывания с гепарином и показано, что гепарин-связывающая активность подавлялась D-фруктозой, D-глюкозой, инулином и гликогеном; D-галактоза, декстран и маннан не оказывали ингибирующего эффекта. Аналогичные исследования, проведенные с бычьей спермой [21, 27], позволили авторам выделить и охарактеризовать два гепарин-связывающих белка. Один из них с мол. массой 31 kDa, был охарактеризован как ДНК-аза, а второй с мол. массой 24 kDa – как ингибитор тканевой нейтральной металлопротеиназы. Авторы получили к этим белкам антитела и с их помощью определили источники поступления этих белков в сперму. Ингибитор металлопротеиназы преимущественно содержится и, видимо, синтезируется в предстательной железе, а ДНК-аза ведет свое происхождение из яичек. Авторы сообщают, что антитела к ингибитору металлопротеиназы семенной плазмы быка обнаружили этот антиген и в семенной плазме человека.

Как уже упоминалось выше, спермадгезины связываясь с головкой сперматозоидов, препятствуют преждевременной капацитации. Капацитация – это приобретение сперматозоидами млекопитающих способности к проникновению через яйцевую оболочку в яйцеклетку. Капацитация осуществляется в половых путях самки под влиянием секретов, вырабатываемых стенками яйцеводов и матки. Для капацитации сперматозоидов кролика требуется 5–6 ч, крысы – 2–3 ч, коровы – 5–8 ч. Капацитация может быть достигнута и *in vitro*, в искусственной среде. Предполагают, что сущность физиологических изменений при капацитации заключается в удалении с поверхности сперматозоидов веществ, блокирующих осуществление акросомальной реакции [26].

У свиней многочисленные секреторные белки семенной плазмы являются членами семьи спермадгезина, который представляет собой, как мы писали выше, новый класс углеводов-связанных белков и составляет значительную долю белков семенной плазмы [41]. Исследовано действие спермадгезина, связанного с гепарином и свободного, на жизнеспособность, подвижность, и митохондриальную активность сперматозоидов хряка. Инкубация сперматозоидов с гепарин-связанным спермадгезином вызвала время- и дозо-зависимое снижение доли функциональных сперматозоидов. Процент жизнеспособных сперматозоидов, выдержанных в среде с гепарин-связанным спермадгезином, сократился с 75% (через 0,5 часа) до 4% (через 5 ч), в то время как процент жизнеспособных сперматозоидов, выдержанных в физиологическом растворе без белков, уменьшился с 85% (0,5 часа) до 19% (5 часов). Напротив, инкубация сперматозоидов со свободным спермадгезином привела к увеличению концентрации жизнеспособных клеток (65% после 5 ч инкубации) с максимальным эффектом на 1,5 мг/мл. Авторы считают, что свободный от гепарина белковый фрагмент спермадгезина и гепарин-связанный спермадгезин оказывают антагонистическое влияние на функциональность сперматозоидов кабана. Вывод о том, что PSP-I/PSP-II способствует поддержанию спермы с высокой жизнеспособностью, подвижностью, и митохондриальной деятельности в течение не менее 5 ч при физиологической температуре, указывает на его возможное использование в качестве сперма-протектора [7, 11].

Все больше данных указывает на то, что протеогликианы поверхности сперматозоидов играют решающую роль в качестве контррецепторов для определенных оли-

госахаридных цепей гликопротеинов zona pellucida ооцитов. В следующей работе [36] приводятся основные структурные характеристики белка AQN-1. Это 12 Кда белок семенной плазмы кабана. Молекулярная масса AQN-1 была определена методом масс-спектрометрии. Первичная структура AQN-1 уникальна и не имеет значительного сходства с известными белками. Но он входит в семейство спермадгезинов, так как содержит однотипные домены, характерные для крупного рогатого скота, лошадей, коз, человека. Флюоресцентно меченный препарат белка избирательно связывается с поверхностью ооцитов, как в свободном виде, так и после предварительной инкубации со сперматозоидами, на которых он располагается в апикальной зоне.

Гетеродимер спермадгезина способен в низкой концентрации (0,15 мг на миллион сперматозоидов) сохранить жизнеспособность сперматозоидов кабана, которые были предварительно заморожены оттаяны. В опыте сперматозоиды сохраняли подвижность в среднем на 180 минут дольше, чем в контрольной группе, и повышался процент оплодотворенных яйцеклеток с 18 до 27% [2].

Эксперименты с димеризацией и тетрамеризацией гепарин-связывающего белка бычьей спермы показали, что сайты связывания низкомолекулярных сахаров, ингибирующих присоединение гепарина, закрываются после димеризации большого гепарин-связывающего белка бычьей спермы [18].

Наряду с исследованием белковых компонентов протеогликанов семенной плазмы и их роли в различных аспектах оплодотворения ведутся исследования роли углеводных компонентов протеогликанов, как в составе углевод-белковых комплексов, так и свободных олигосахаридов.

Исследование различных гликозаминогликанов (хондроитинсульфата, гепарансульфата и гиалуроновой кислоты) для улучшения качества сперматозоидов при искусственном осеменении свиней показало наилучшие результаты при добавлении в среду 0,05% хондроитин-сульфата [28]. Химическая модификация (сульфатирование) гликозаминогликанов, а именно гепаран-сульфата, входящего в состав протеогликанов семенной плазмы быка, приводит к деконденсации ядер сперматозоидов в 2,64 раза больше, чем в контрольной группе. Количество сульфогрупп на единицу веса ГАГ коррелирует со степенью деконденсации [32, 34].

Позднее эти же исследователи [33] на человеческих сперматозоидах провели аналогичную работу, а также сравнили раз-

личные ГАГ гепарин, О-сульфат гепарина, N- и О/N- сульфат-гепарина на способность к деконденсации хроматина сперматозоидов. Деконденсирующая способность гепарина не была связана с молекулярной массой, в пределах диапазона 3000–18000 kDa. Деконденсирующая способность связана с уровнем сульфатации гепарина. В естественных условиях этот структурный аналог гепарина может быть деконденсирующим фактором спермы.

В другом эксперименте [30] исследовали влияние различных концентраций гепарина на традиционные показатели спермограммы – подвижность и осмотическая устойчивость сперматозоидов и на акросомальную реакцию и обнаружили, что все примененные концентрации гепарина практически не влияют на скорость движения сперматозоидов и их устойчивость, но большие концентрации (1 мг/100 мл) стимулируют акросомальную реакцию.

Количественная оценка связывания гепарина на поверхности сперматозоидов с помощью [H3]-меченного гепарина показала [17], что на сперматозоидах бесплодных мужчин связывается в среднем на 47–49% гепарина меньше, чем на сперматозоидах здоровых мужчин. Дальнейшие исследования функции гепарина в тестах пенетрации ооцитов хомяков в сравнении с уровнем деконденсации хроматина не выявили связи традиционных параметров спермы (объем, подвижность и число сперматозоидов) с показателями пенетрирующей способности и деконденсацией хроматина. Связывание гепарина сперматозоидами, напротив, достоверно ($P < 0,001$) коррелирует с числом пенетраций на 1,0 млн сперматозоидов и имеет достоверную отрицательную корреляцию ($r = -0,64$) с уровнем деконденсации хроматина [6].

На основании этих данных и собственных исследований [43] предложили использовать гепарин-глобулиновый тест, позволяющий оценить степень насыщения поверхности сперматозоида гепарином как показатель отбора сперматозоидов для процедуры экстракорпорального оплодотворения.

Однако существует и противоположная точка зрения. В работе [22] приводятся данные, которые свидетельствуют об отсутствии корреляции между уровнем гепарина на поверхности сперматозоидов и способностью их к пенетрации, подавлению деконденсации хроматина и подвижности сперматозоидов. Влияние гепаран-сульфата на размороженные бычьи сперматозоиды исследовали также в тестах капацитации и акросомальной реакции [33] и обнаружили что, гепаран-сульфат снижает

стабильность плазматической мембраны сперматозоидов ($p < 0,001$).

В аналогичном исследовании обнаружен протективный эффект гиалуроновой кислоты на стабильность мембран сперматозоидов и повышение их жизнеспособности при хранении в повышенных концентрациях гиалуроната. Эти процессы носят доза-зависимый характер [29].

При исследовании аффинных свойств углеводов различных гликозаминогликанов эпителиальных клеток маточных труб показано, что наибольшим сродством к поверхности сперматозоидов обладают маннан и гепаран-сульфаты [38].

Влияние гиалуроновой кислоты на отмытые сперматозоиды различной степени зрелости связано с ролью гиалуроновой кислоты семенной плазмы в функционировании плазматической мембраны сперматозоидов, т.к. гиалуроновая кислота в эксперименте активировала капацитацию только зрелых сперматозоидов в отличие от физических и химических факторов, одинаково действующих и на клетки сперматогенеза, и на незрелые сперматозоиды [14]. Далее продемонстрировано, что гиалуроновая кислота улучшает скорость и сохранение подвижности сперматозоидов. Использование гиалуроновой кислоты, вероятно, окажется выгодным в развитии вспомогательных репродуктивных технологий: во внутриматочном оплодотворении и в экстракорпоральном оплодотворении (IVF) пролонгированная подвижность сперматозоидов и увеличенная скорость повысят эффективность оплодотворения; при внутрицитоплазматической инъекции спермы (ICSI) улучшенная подвижность облегчит идентификацию жизнеспособного сперматозоида. Поскольку гиалуроновая кислота физиологический компонент и женских, и мужских половых путей, использование гиалуроновой кислоты не должно вызвать этические проблемы.

Таким образом, исследование структуры и свойств сложных углеводов-белковых комплексов мужской репродуктивной системы, показало существование разнообразной и далеко не полно изученной кооперации собственно протеогликанов и их белковых или углеводных компонентов со сперматозоидами и другими клетками репродуктивной системы. Эти исследования фактически касаются только одной группы белков семейства спермадгезинов, раскрывая их структуру, свойства и некоторые функции. Существование других протеогликанов только констатируется. Практически нет данных об изменении уровня и спектра протеогликанов при патологии

репродуктивной системы и о влиянии на них неблагоприятных условий окружающей среды. Подобные знания необходимы для выяснения тончайших деталей сперматогенеза и оплодотворения и, следовательно, для познания фундаментальных механизмов оплодотворения, углубления знаний о патогенезе бесплодия и для решения демографических проблем.

Список литературы/References

- Alliel P.M., Perin J-P., Jolles P., Bonnet F J. Testican, a multidomain testicular proteoglycan resembling modulators of cell social behavior // *Eur. J. Biochem.* – 1993. – Vol. 214. – P. 347–350
- Caballero I., Vazquez J.M., Gil M.A., Calvete J.J., Roca J., Sanz L., Parrilla I., Garcia E. M., Rodriguez-Martinez H., Martinez E.A. // Does Seminal Plasma PSP-I/PSP-II Spermadhesin Modulate the Ability of Boar Spermatozoa to Penetrate Homologous Oocytes In Vitro. // *J. Andrology.* – 2004. – Vol. 25. – № 6. – P. 352–361.
- Calvete J.J., Raida M., Gentzel M., Urbanke C., Sanz L., Topfer-Petersen E. Isolation and characterization of heparin- and phosphorylcholine-binding proteins of boar and stallion seminal plasma. Primary structure of porcine pB1 // *FEBS Lett.* – 1997. – Vol. 407. – № 2. – P. 201–206.
- Calvete J.J., and Sanz L. (2007). Insights into structure–function correlations of ungulate seminal plasma protein // *Soc. Reprod. Fertil.* – 65, 201–216.
- Carrell DT, Emery BR, Peterson CM The correlation of sperm chromatin decondensation following in vitro exposure to heparin and sperm penetration rates // *Asian J. Reprod Genet.* – 2011. – Vol. 17. – № 9. – P. 560–564.
- Centurion F., Vazquez J. M., Calvete J.J., J. Roca, L. Sanz, I. Parrilla, E.M. Garcia, Martinez E.A. Influence of Porcine Spermadhesins on the Susceptibility of Boar Spermatozoa to High Dilution // *Biology of Reproduction.* – 2003. – Vol. 69. – № 2. – P. 640–646.
- Chandonnet L., Roberts K.D., Chapdelaine A. and Manjunath, P. Identification of heparin-binding proteins in bovine seminal plasma // *Mol. Repr. Dev.* – 1990. – Vol. 26. – № 2. – P. 313–318.
- Ding Z., Qu F., Guo W., Ying X., WU M., Identification of Sperm Forward Motility-Related Proteins in Human Seminal Plasma Molecular reproduction and development. – 2007. – № 74. – P. 1124–1131,
- Ding Z., Qu F., Guo W., Ying X., W.U.M., Identification of Sperm Forward Motility – Related Proteins in Human Seminal Plasma Molecular reproduction and development. – 2007. – № 74. – P. 1124–1131.
- Ekhlas-Hundrieser M., Gohr K., Wagner A., Tsoлова M., Petrunkina A., Topfer-Petersen E. Spermadhesin AQN1 Is a Candidate Receptor Molecule Involved in the Formation of the Oviductal Sperm Reservoir in the Pig // *Biology OF Reproduction.* – 2005. – Vol. 73. – P. 536–545.
- Eriksen G.V., Malmström As., Uldbjerg N. Human seminal proteoglycans in relation to in vitro fertilization // *J. Reprod.* – 2007. – Vol. 21. – P. 241–3250.
- Gotting C., Kuhn J., Brinkmann T., Kleesiek K. Xylosyltransferase activity in seminal plasma of infertile men // *Clin Chim Acta.* – 2002. – Vol. 317. – № 2. – P. 199–202.
- Huszar G., Ozenci C.C., Cayli S., Zavaczki Z., Hansch E., Vigue L. Hyaluronic acid binding by human sperm indicates cellular maturity, viability, and unreacted acrosomal status // *Fertil Steril.* – 2013. – Vol. 79. – Suppl 3. – P. 1616–1624.
- Iseki K.I., Hagino S., Zhang Y., Mori T., Sato N., Yokoya S., Hozumi Y., Goto K., Tase C. Altered expression pattern of testican – 1 mRNA after brain injury // *Biomed Res.* 2011 Dec. – № 32(6). – P. 373–8.

15. Cajazeiras J.B., Melo L.M., Albuquerque E.S., G. Rádis-Baptista, B.S. Cavada // Analysis of protein expression and a new prokaryotic expression system for goat spermadhesin Bdh – 2 cDNA // Genetics and molecular research GMR. – 2009. – Vol. 8. – № 3. – P. 1147–1167.
16. Kraus M., Ticha M., Jonakova V. Heparin – binding proteins of human seminal plasma homologous with boar spermadhesins // J Reprod Immunol. – 2001 Aug. – № 51(2). – P. 131–44.
17. Lalich R.A., Vedantham S., McCormick N., Wagner C., Prins G.S. Heparin binding characteristics of human spermatozoa // J Reprod Fertil. – 1989. – Vol. 86. – № 1. – P. 297–302.
18. Liberda J., Kraus M., Ryslava H., Vlasakova M., Jonakova V., Ticha M.D. – fructose – binding proteins in bull seminal plasma: isolation and characterization // Folia Biol (Praha). – 2014. – Vol. 54. – № 4. – P. 123–129.
19. Marr H.S., Basalamah M.A., Bouldin T.W., Duncan A.W., Edgell C.J. Distribution of testican expression in human brain // Cell Tissue Res. – 2010. – Vol. 302. – № 2. – P. 139–144.
20. Mathews M. Macromolecular evolution of connective tissue // Biol. Rev. – 1987. – Vol. 42. – P. 499–558.
21. McCauley T.C., Zhang H.M., Bellin M.E., Ax R.L. Identification of a heparin – binding protein in bovine seminal fluid as tissue inhibitor of metalloproteinases – 2 // Mol Reprod DeVol. – 2009. – Vol. 62. – № 3. – P. 433–438.
22. Merkies K., Larsson B., Kjellen L., Zhang B.R., Buhr M.M., Rodriguez-Martinez H. Relationship between heparin binding to spermatozoa and the fertility of dairy bulls // Theriogenology. – 2007. – Vol. 57. – № 6. – P. 1249–1256.
23. Miller D.J., First N.L., Ax R.L. Isolation and characterization of seminal fluid proteins that bind heparin // Adv Exp Med Biol – 1987 – Vol. 219 – № 3 – P. 597–601.
24. Miller D.J., Winer M.A., Ax R.L. Heparin-binding proteins from seminal plasma bind to bovine spermatozoa // Biol Reprod. – 1998. – Vol. 42. – № 6. – P. 909–915.
25. Miller D.J., Winer M.A., Ax R.L. Heparin-binding proteins from seminal plasma modulate capacitation by heparin // Biol Reprod. – 1999 – Vol. 44. – № 9. – P. 654–663.
26. Miller F.P., Vandome A.F., McBrewster J. Heparin-binding proteins. – 2012. – LAP Lambert Academic Publishing GmbH & Co. KG. – 92 p.
27. Moura A.A., Koc H., Chapman D.A., Killian G.J. Identification of Proteins in the Accessory Sex Gland Fluid Associated With Fertility Indexes of Dairy Bulls: A Proteomic Approach // Journal of Andrology. – 2006. – Vol. 27. – № 2. – P. 472–480.
28. Oancea A., Moldovan L., Flămânzeanu M., Mateescu M., Cojocaru F. A New Boar Sperm Dilution Medium for Artificial Insemination Technology // Roum. Biotechnol. – 2006. – Vol. 16. – P. 1275–1279.
29. Pena F.J., Johannisson A., Wallgren M., Rodriguez-Martinez H. Effect of hyaluronan supplementation on boar sperm motility and membrane lipid architecture status after cryopreservation // Theriogenology. – 2014. – Vol. 61. – № 1. – P. 63–70.
30. Pereira R.J., Tuli R.K., Wallenhorst S., Holtz W. The effect of heparin, caffeine and calcium ionophore A23187 on in vitro induction of the acrosome reaction in frozen – thawed bovine and caprine spermatozoa // Theriogenology. – 2006 Jul 15. – № 54(2). – P. 185–92.
31. Rnoslahti E., Yamaguchi Y. 1991. Proteoglycans as modulators of growth factor activities Cell. – 2001. – Vol. 74. – № 5. – P. 867–869.
32. Romanato M., Cameo M.S., Bertolesi G., Baldini C., Calvo J.C., Calvo L. (2008 Hum Reprod. – 2008 Sep. – № 18(9). – P. 1868–73. Heparan sulphate: a putative decondensing agent for human spermatozoa in vivo.
33. Romanato M., Regueira E., Cameo M.S., Baldini C., Calvo L., Calvo J.C. (Further evidence on the role of heparan sulfate as protamine acceptor during the decondensation of human spermatozoa // Hum Reprod. – 2005. – Vol. 20. – № 10. – P. 2784–2789.
34. Romanato M., Regueira E., Cameo M.S., Baldini C., Calvo L., Calvo J.C. // Further evidence on the role of heparan sulfate as protamine acceptor during the decondensation of human spermatozoa.: Hum Reprod. – 2005 Oct. – № 20(10). – P. 2784–2789.
35. Romão M.J., Kölln I., Dias J.M., Carvalho A.L., Romero A., Varela P.F., Sanz L., Töpfer-Petersen E., Calvete J.J.J // Crystal structure of acidic seminal fluid protein (aSFP) at 1.9 Å resolution: a bovine polypeptide of the spermadhesin family // Mol Biol. – 2002. – Vol. 274. – № 12. – P. 650–660.
36. Sanz L., Calvete J.J., Mann K., Schäfer распознавания The complete primary structure of the boar spermadhesin AQN-1, a carbohydrate-binding protein involved in fertilization // W.Eur J. Biochem. – 2002. – Vol. 215. – P. 645–652.
37. Skinner M.K., Fritz I.B. Structural Characterization of Proteoglycans Produced by Testicular Peritubular Cells and Sertoli Cells // J. Cell. Bioorg.Chem. – 2009. – Vol. 280. – № 17. – P. 11874–11883.
38. Sostaric E., van de Lest C.H., Colenbrander B., Gaddella B.M. Dynamics of carbohydrate affinities at the cell surface of capacitating bovine sperm cells // Biol Reprod. – 2005. – Vol. 72. – № 2. – P. 346–357.
39. Tedeschi G., Oungre E., Mortarino M., Negri A., Maffeo G., Ronchi S. Purification and primary structure of a new bovine spermadhesin // Eur J Biochem. – 2000. – Oct; 267(20). – P. 6175–6179.
40. Töpfer-Petersen E., Ekhlesi-Hundrieser M., Romero A., Varela P.F., Dostalova Z., Calvete J.J. Spermadhesins: a new protein family. Facts, hypotheses and perspectives. Andrologia. – 2004. – Vol. 44. – № 4. – P. 713–729.
41. Topfer – Petersen E., Romero A., Varela P.F., Ekhlesi-Hundrieser M., Dostalova Z., Sanz L., Calvete J.J. Spermadhesins: a new protein family. Facts, hypotheses and perspectives. // Andrologia. – 1998. – Vol. 30. – P. 217–224.
42. Tung P.S., Fritz I.B. Interactions of Sertoli cells with laminin are essential to maintain integrity of the cytoskeleton and barrier functions of cells in culture in the two – chambered assembly // J Cell Physiol. – 2003. – Vol. 156. – № 7. – P. 1–11.
43. Vendrell F.J., Rubio C., Tarin J.J.. The heparin – glutathione test: an alternative to the hypo – osmotic swelling test to select viable sperm for intracytoplasmic sperm injection. // Fertil Steril. 2012. – Vol. 87. – № 6. – P. 1166–1171.

Рецензенты:

Молдавская А.А., д.м.н., профессор кафедры анатомии человека, ГБОУ ВПО «Астраханский государственный медицинский университет», г. Астрахань;

Фельдман Б.В., д.б.н., доцент, зав. кафедрой биологии и ботаники фармацевтического факультета, ГБОУ ВПО «Астраханский государственный медицинский университет», г. Астрахань.