

Научная статья

УДК 577.3.616.69-008.6/543.424

DOI: 10.17586/2310-1164-2024-17-3-36-58

Метод Фурье ИК-спектроскопии в исследовании эякулята в норме и с олигозооспермией

А.П. Нечипоренко^{1*}, В.Е. Ситникова¹, А.В. Коноваленко², У.Ю. Нечипоренко³¹Университет ИТМО, Россия, Санкт-Петербург²Бюро судебно-медицинской экспертизы, Россия, Санкт-Петербург³Независимая лаборатория «ИНВИТРО СПб.», Россия, Санкт-Петербург

*allanech2512@yandex.ru

Аннотация: Методом Фурье ИК-спектроскопии исследовали оптические свойства составных частей (плазма, сперматозоиды, белок, надосадочный раствор после выделения белка из плазмы) 24-х образцов эякулята по данным спермограмм в норме и с олигозооспермией. Анализ комплекса спектральных данных, полученных для серии образцов категории «норма», показал в 50% случаев наличие явно выраженной патологии по оптическим свойствам эякулята, плазмы и сперматозоидов. Для остальных 50% образцов отмечено наличие сперматозоидов удовлетворительного качества по вещественному составу (протеины, липиды, углеводы) при уже хорошо заметных признаках патологии в эякуляте и плазме. Сравнительный анализ их оптических свойств позволил отметить, что отсутствие в спектрах четко выраженных полос Амид-I и Амид-II и наличие полос пептидов в области 1593–1572 см⁻¹ является устойчивым признаком имеющейся или зарождающейся патологии. Образцы категории олигозооспермия достаточно хорошо идентифицируются по спектрам клеточной части эякулята. Результаты исследования могут быть полезны при модернизации клинических методик и диагностических подходов в проблеме мужской фертильности.

Ключевые слова: биоматериалы; сперматогенез; олигозооспермия; эякулят; Фурье ИК-спектроскопия

Original article

The Fourier method of IR-spectroscopy in the study of ejaculate in normal and oligozoospermia

Alla P. Nechiporenko^{1*}, Vera E. Sitnikova¹, A.V. Konovalenko², Ulyana Yu. Nechiporenko³¹ITMO University, St. Petersburg, Russian²Bureau of Forensic Medical Examination, St. Petersburg, Russian³Independent laboratory "INVITRO SPb.", St. Petersburg, Russian

*allanech2512@yandex.ru

Abstract. The optical properties of the components (plasma, spermatozoa, protein and a solution after protein isolation from plasma) of a series of 24 ejaculate samples according to spermatograms in normal and with oligozoospermia were studied by Fourier IR spectroscopy. The analysis of the complex of spectral data obtained for a series of samples of the "norm" category showed in 50% of cases the presence of pronounced pathology in the optical properties of ejaculate, plasma and sperm. For the remaining 50% of the samples, the presence of spermatozoa of satisfactory quality in terms of material composition (proteins, lipids, carbohydrates) was noted with already well-marked signs of pathology in the ejaculate and plasma. A comparative analysis of their optical properties made it possible to note that the absence of clearly defined Amide-I and Amide-II bands in the spectra and the presence of peptide bands in the 1593–1572 cm⁻¹ region is a stable sign of an existing or incipient pathology. Samples of the oligozoospermia category are quite well identified by the spectra of the cellular part of the ejaculate. The results of the study may be useful in modernizing clinical techniques and diagnostic approaches to the problem of male fertility.

Keywords: biomaterials; spermatogenesis; oligozoospermia; ejaculate; Fourier infrared spectroscopy

Введение

В течение последних 5–6 десятилетий в России и за рубежом в ряде андрологических публикаций неоднократно с возрастающей тревогой заострялось внимание на тенденцию увеличения количества бесплодных браков. Сегодня бесплодие становится уже не только демографической, но и серьезной медико-социальной проблемой мирового масштаба [1–3]. По данным эпидемиологических исследований Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), частота бесплодных браков в различных популяциях планеты, имея угрожающую тенденцию к увеличению, составляет 8–29% и в 40–50% случаев причины бесплодия в браке связаны с мужским фактором – нарушением системы репродукции мужчин [4–6].

При этом в 10% случаев беременность заканчивается мертворождением, а у 10–25% супружеских пар наблюдается вторичное бесплодие (не происходит зачатия более одного ребенка) [7].

По данным ученых разных стран, всего за 30 лет, на период с 1973 по 2011 год, снижение фертильности в среднем на 50% отмечено во всех регионах планеты как в странах Азии, Африки, США, Северной Америки, Новой Зеландии, Австралии, так и Европы, особенно восточной [8–14]. Вывод сделан на основе 185 исследований спермы 42935 мужчин из 50 стран. Французские ученые показали, что качество мужской спермы ухудшалось на 2% ежегодно с 1973 по 1992 год. В 2009 году журнал *The Economist* написал, что если бесплодие продолжит расти таким темпом, человечество может пройти «точку невозврата» в продолжении рода.

Аналогичная ситуация характерна и для мужчин репродуктивного возраста в России [15–17]. Сведения, представленные Центром акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова, показали, что в РФ зафиксировано более 4 млн бесплодных браков, составляющих 17% от их общего числа [18–20]. И это уже превышает критический уровень – 15%, который, как установил ВОЗ, необходим для естественного воспроизводства численности популяции.

Нарушения в репродуктивной системе влекут неблагоприятные последствия и для мужского здоровья в целом. Как отмечают авторы [21, 22], у мужчин с низким качеством эякулята регистрируется уменьшение продолжительности жизни, а при наличии двух или более аномальных параметров спермы риск преждевременной смерти увеличивался в 2,3 раза по сравнению с мужчинами с нормальной спермой. То есть мужское здоровье сегодня представляет глобальную проблему мирового масштаба, а качество спермы с этой точки зрения может рассматриваться и как фундаментальный биомаркер его состояния в целом.

Среди многочисленных и многообразных факторов, предрасполагающих развитие бесплодия, помимо генетических, инфекций, травм, воспалительных процессов [23–26] являются особенности образа жизни и питания [27–31], а также условий труда и влияние внешних неблагоприятных воздействий [32–35].

На сегодняшний день первичным диагностическим инструментом для выявления мужского бесплодия и его возможных причин является спермограмма – самый простой и доступный вид исследования, основы которого были заложены в 1929 году. Общепринятые методы лабораторной диагностики, разработанные еще в 50–70-х годах прошлого века, представлены в ней главным образом морфологическим направлением, базовые показатели которого – концентрация сперматозоидов, подвижность и содержание клеток нормальной морфологии характеризуют оплодотворяющую способность спермы [36–38]. Однако эти параметры спермограммы обсуждаются уже на протяжении 60 лет и споры продолжаются, поскольку, как считают некоторые авторы, в диагностике они дают далеко неполную информацию о возможных нарушениях сперматогенеза и реальных причинах мужского бесплодия [39–41]. К тому же разброс по результатам анализа одних и тех же образцов в разных лабораториях часто составляет до 78%. И лечащий врач в 50–70% случаев вынужден констатировать идиопатическую (необъяснимую) форму бесплодия. То есть, причина патоспермии остается неясной, и в плане диагностики и лечения такие пациенты являются самыми сложными.

Первое издание руководства ВОЗ по исследованию и обработке эякулята человека опубликовано в 1980 году. С тех пор издано шесть его обновлений, в каждом из которых эксперты пытаются стандартизировать методику изучения эякулята с целью повышения надежности дифференциации фертильных и бесплодных мужчин. Неоднократно на протяжении последних 40 лет менялись представления о характеристиках эякулята фертильного мужчины, пересматривались и уточнялись нормы спермограмм при общей тенденции снижения референсных интервалов – верхнего и нижнего пороговых значений показателей «нормального» эякулята.

Изначально (1980 г.) в качестве пороговых значений были приняты показатели: концентрация сперматозоидов – 60 млн/мл, подвижных и с нормальной морфологией – 70 и 80% соответственно. В дальнейшем (1999 г.) они были пересмотрены в сторону снижения: концентрация – 20 млн/мл и 50% подвижных сперматозоидов при 14% содержании морфологически нормальных форм. Согласно критериям руководства ВОЗ 2010 года, норма концентрации сперматозоидов снижается до 18 млн/мл, подвижность считается нормальной при 38–42%, а нормальная морфология – не ниже 3–4%.

Решение о принятии таких пороговых значений критиковалось [42–47] поскольку, во-первых, они не позволяли хотя бы с достаточной надежностью решить вопрос о дифференциации бесплодных и фертильных пациентов, поскольку нижняя граница допустимых количественных отклонений показателей эякулята весьма условно позволяла разделять нормозооспермию и олигозооспермию. И, во-вторых, существенное занижение верхнего порога референсных интервалов приводит к тому, что мужчины с уже пониженной фертильностью попадают в группу нормозооспермии. Однако в шестом издании (2021 г.) руководства ВОЗ эксперты не делают акцент на какое-либо определенное референсное значение, а предлагают каждой лаборатории определять свои пороговые показатели, тестируя достаточно большое количество фертильных мужчин.

Одним из наиболее значимых изменений в обновленной шестой версии руководства ВОЗ является предложение отказаться от референсных интервалов [45, 46] и перейти к так называемым «пределам принятия решения» – разделению значений показателей спермограммы на диапазоны, характерные для фертильных и бесплодных мужчин, а также выделение области пограничных значений – промежуточную «серую зону», поскольку нижняя граница количественных аберраций показателей эякулята, которая надежно дифференцировала бы нормозооспермию и олигозооспермию, установлена нечетко. Однако, несмотря на нововведения, многие проблемы, связанные со сложностью оценки мужской фертильности, по-прежнему остаются нерешенными, спорными и требуют дальнейшей разработки и научного обоснования.

В известном смысле, как считают авторы [21], ситуацию в современной сперматологии можно охарактеризовать как методологический тупик, и остается признать, что в настоящее время не существует простого и надежного метода диагностики и прогнозирования фертильности мужчины. Жестко регламентированные подходы методов, основанных на субъективности микроскопии и по большей части рутинных биохимических анализах, практически себя исчерпали и, подвергаясь обоснованной критике, нуждаются в модернизации с учетом современного научного видения проблемы и методов не только гистологических и биохимических исследований. Это касается молекулярно-химических основ фертильности и расшифровки всей совокупности взаимодействий между комплексом химических соединений, которые вовлечены в реализацию функции воспроизводства, их структурно-функциональных изменений с появлением признаков патологии [48, 49]. И прежде всего это относится к структурно-функциональным изменениям самих веществ, являющихся основополагающими для зарождения и жизнедеятельности клетки – протеинов [50–53], липидов [54–57], углеводов [58–62]. Авторам [21] представляется крайне востребованной и разработкой теоретической базы для диагностических поисковых программ по решению проблемы мужского бесплодия.

В последние два десятилетия в исследованиях эякулята человека и животных начали активно использоваться инструментальные методы – дифференциальная сканирующая калориметрия, магнитно-резонансная, Рамановская и масс-спектрометрия [63–66]. Наибольшее внимание привлекает простой, быстрый, высокочувствительный и неразрушающий метод Фурье ИК-спектроскопии [67–70], позволяющий с высокой точностью обнаруживать изменения в макромолекулах жидких биологических материалов (кровь, сыворотка, ликвор, слюна, пот, моча), в том числе и эякулята.

Цель работы – исследовать возможности метода Фурье ИК-спектроскопии в анализе серии образцов эякулята в норме и с олигозоосперией.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования являлись 24 произвольно отобранных образца эякулята в норме и с олигозооспермией мужчин разной возрастной категории и его основные составляющие – сперматозоиды, плазма, белок, надосадочный раствор после выделения белка из плазмы (НОР). Спермограммы образцов эякулята (таблица), выполненные в соответствии с нормативами ВОЗ, предоставлены Лабораторией Хеликс (Санкт-Петербург).

В качестве образца сравнения принят образец № 1 с добровольного согласия донора – мужчины 56 лет без вредных привычек, ведущего здоровый образ жизни, занимающегося спортом, практикующего хатха-йогу и ваджроли мудру.

Таблица. Некоторые показатели спермограмм и биохимического анализа
Table. Some indicators of spermograms and biochemical analysis

№ образца	V, мл	Концентрация млн/мл	Живых, %	Мертвых, %	Неподвижных, %	Подвижных, %	Норма, %	Дефект, %			Клет. сп-за в п/зр	Белок, г/л	Тестостерон, нмоль/л
								голова	шея	хвост			
Группа I													
1	3,0	215	82	18	12	82	78	10	2	10	0	92,00	65,82
2	8,5	134	84	16	27	71	12	67	11	10	0	35,45	42,80
3	4,5	118	33	67	70	30	9	68	8	15	2	48,49	45,68
4	1,4	100	55	45	47	53	4	68	9	19	1	35,72	55,28
5	1,6	49	69	31	37	63	12	71	3	15	2	40,26	36,12
6	1,5	127	58	42	46	54	3	75	13	9	2	42,32	68,92
7	3,0	157	54	44	47	53	1	81	9	9	1	26,50	27,38
8	2,0	95	44	56	57	43	1	81	10	8	2	41,82	23,90
9	3,5	93	71	29	30	70	2	86	9	3	2	33,81	34,18
Группа II													
10	5,9	75	80	20	21	79	1	72	10	16	1	42,28	26,31
11	2,3	71	41	59	64	36	2	81	8	9	2	34,21	20,42
12	2,6	153,5	57	43	49	51	3	76	13	8	2	27,42	75,30
13	4,5	71	70	30	32	68	5	72	9	14	2	61,52	84,56
14	4,5	50	70	30	32	68	4	63	18	15	1	34,10	84,31
15	2,5	119	60	40	43	57	16	69	8	7	0	27,20	74,30
16	8,0	26	42	58	72	28	3	77	7	13	2	38,42	28,30
17	1,5	66	65	35	38	62	3	78	12	7	1	65,14	51,43
18	2,5	119	60	40	43	57	16	69	8	7	0	27,20	74,30
Группа III													
19	6,2	15	16	84	84	16	1	34	41	24	6	30,46	31,84
20	3,4	64,5	67	33	34	66	5	68	13	14	2	29,16	47,64
21	5,0	26	60	40	42	58	1	20	60	19	2	21,80	37,40
22	2,5	20	19	81	81	19	1	62	9	28	1	45,24	8,79
23	5,0	0,5	29	71	90	10	0	60	3	37	3	20,14	9,16
24	3,5	73,5	32	68	62	38	0	66	4	30	1	23,90	67,28

Разделение жидкой и клеточной частей эякулята проводилось на ультрацентрифуге с последующей трехкратной отмывкой осадка клеток сперматозоидов с сопутствующими клетками эякулята (клетки эпителия и сперматогенеза) от плазмы физраствором.

Белок из плазмы осаждали трехкратным избытком 96% этанола. Для получения ИК-спектров эякулят и его компоненты наносились на предметные стекла и высушивались воздушно 12–14 ч при комнатной температуре (20–22°C).

Колебательные спектры (32 скана) высушенных образцов получали на Фурье-спектрометре Tensor 37 (Bruker, Германия) с алмазным НПВО элементом в диапазоне волновых чисел 4000–600 см⁻¹ и программным пакетом Opus. Полученные результаты обрабатывались в программе Origin.

Результаты и их обсуждение

Предварительный анализ всей совокупности спектральных данных, полученных при исследовании оптических свойств эякулята и его основных составляющих, показал, что наиболее определенную и однозначную информацию о качестве материала позволяют получать спектры сперматозоидов [72]. Возможность идентификации образцов сперматозоидов, выделенных из эякулята с олигозооспермией, по характерному рисунку спектральных кривых и положению максимумов основных полос во всех диапазонах шкалы волновых чисел иллюстрирует рисунок 1, что согласуется с данными спермограмм

(таблица). Наиболее показательным различием при сопоставлении общего вида спектров двух наборов образцов сперматозоидов является:

- ✓ фактура рисунка спектра в высокочастотной области ($3600\text{--}2500\text{ см}^{-1}$);
- ✓ резкое снижение общей интенсивности спектров для образцов с олигозооспермией;
- ✓ снижение соотношения интенсивностей полос, характеризующих соотношение белковой и углеводной компонент в составе клетки сперматозоидов: для набора образцов в норме – $A_{1634}/A_{1046} = 1,04\text{--}3,58$; для набора с олигозооспермией – $A_{1648}/A_{1044} = 0,43\text{--}1,00$, что может указывать на увеличение негативной роли углеводного фактора при формировании клетки сперматозоидов в процессе сперматогенеза.

Однако и анализ спектров образцов сперматозоидов в норме (рисунок 1а) показал заметное различие по спектральным характеристикам, что послужило основанием для их условного разделения на две группы и выделения в группу III образцов сперматозоидов из эякулятов с олигозооспермией.

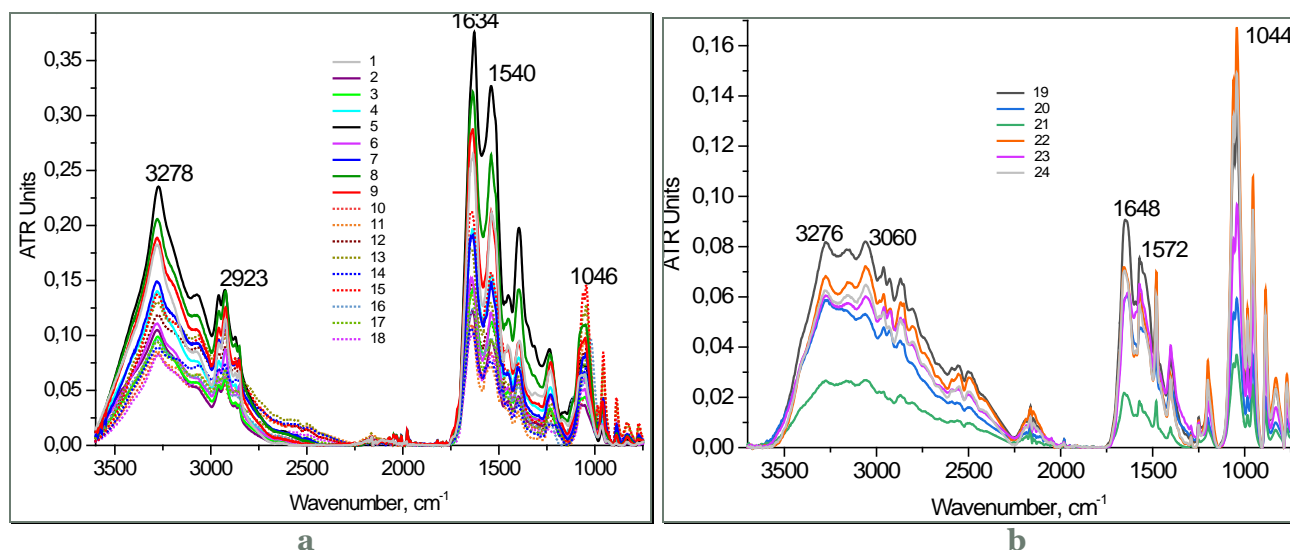


Рисунок 1 – Общий вид ИК-спектров сперматозоидов: а) в норме, б) олигозооспермия
Figure 1. General view of the infrared spectra of spermatozoa: a) normal, b) oligozoospermia

Выделение увеличенных наиболее информативных фрагментов (рисунок 2 и 3), в свою очередь, позволило наблюдать в динамике более тонкие изменения оптических характеристик с ухудшением качества исследуемого материала как при переходе от группы к группе, так и в пределах каждой группы. Сопоставление спектров образцов I и II групп в высокочастотной области (рисунок 2), где проявляются колебания NH-групп пептидной связи и гидроксильных групп ($3600\text{--}3000\text{ см}^{-1}$), а также валентные асимметричные и симметричные колебания CH_n -группировок ($3000\text{--}2800\text{ см}^{-1}$) всех компонентов системы [73], позволяет отметить: снижение интенсивности максимума 3278 см^{-1} сопровождается уменьшением длины и подъемом его правой ветви. Еще более ярко отмеченное проявляется в спектрах образцов группы III – отсутствие выраженности максимума 3274 см^{-1} , увеличение степени дифференциации правой ветви.

На фрагментах спектров $1750\text{--}1500\text{ см}^{-1}$ полосами Амид-I ($1636\text{--}1628\text{ см}^{-1}$) и Амид-II (1540 см^{-1}) проявляют себя C=O-группировки пептидной связи, свидетельствующие о наличии белковых структур. Однако изменение положения максимума полосы Амид-I и ее формы при полной стабильности положения полосы Амид-II может говорить об уже имеющихся изменениях в конформационной структуре белка клеток сперматозоидов группы I. В спектрах образцов группы II отмеченные признаки дополняются уширением и смещением максимума полосы Амид-I и появлением плечей $1578\text{--}1572\text{ см}^{-1}$ на спаде левой ветви полосы Амид-II, указывающие на увеличение в составе клеток доли полипептидной составляющей [74] и снижение белковой.

Спектры группы III показывают, что для образцов сперматозоидов данной группы наиболее заметны изменения именно в области проявления протеиновых компонентов – резкое увеличение интенсивности полипептидной полосы 1572 см^{-1} при общем снижении спектра и слабая проявленность в виде плеча полосы Амид-II (1540 см^{-1}). Формирование новой полосы 1593 см^{-1} по мере снижения качества эякулята скорее всего обусловлено увеличением количества мертвых и сопутствующих клеток (клетки эпителия

и сперматогенеза). Более заметное разнообразие в фактуре и положении максимумов полос Амид-I может указывать как на разные факторы, явившиеся причиной данного вида патологии, так и на возможность их классификации (пары кривых: 20, 23 и 22, 24) по определенному признаку в пределах группы.

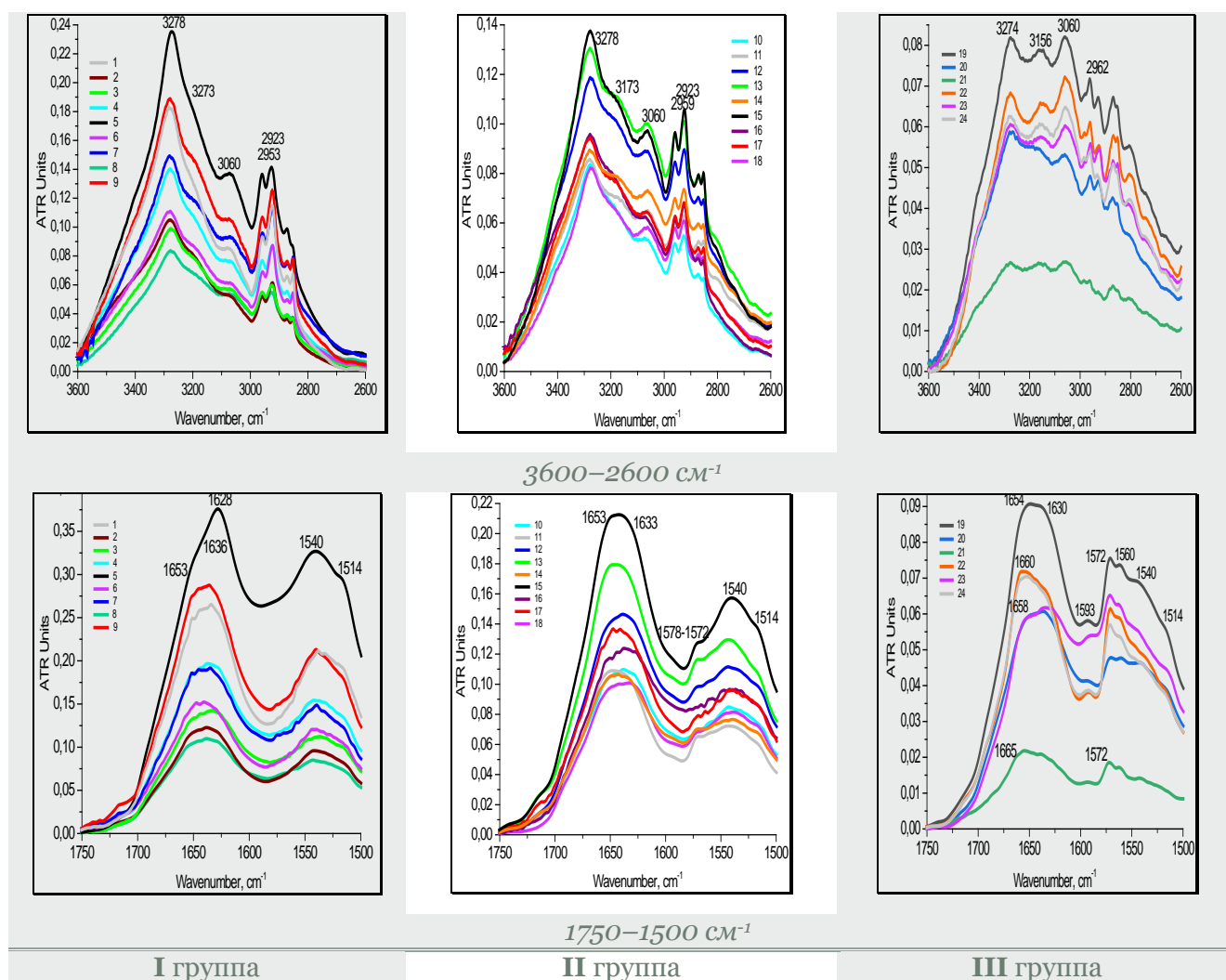


Рисунок 2 – Фрагменты ИК-спектров сперматозоидов по группам
 Figure 2. Fragments of the infrared spectra of spermatozoa by groups

Не менее заметна тенденция в динамике изменения облика спектра при переходе от группы к группе в области проявления колебаний, характеризующих оптические свойства глюко-пептид-фосфолипидных комплексов. На фрагментах спектров 1275–1175 см⁻¹, представленных на рисунке 3а, следует обратить внимание на узкую и достаточно однородную в спектрах большинства образцов I группы полосу 1237–1230 см⁻¹, положение максимума которой обусловлено колебаниями группировок PO₂ структурных фосфолипидов сперматозоидов [67, 68, 75, 76]. Однако в спектрах образцов № 7 и № 8 наблюдаются признаки ее дифференциации – появление на левой и правой ветвях плечей 1248 и 1202 см⁻¹. Так в составе комплекса проявляют себя его компоненты, соответственно: полипептиды – плоскостными деформационными колебаниями NH-групп пептидной связи [67, 68] и глюкоза – колебаниями СН₂-группировок ее β-пиранозной формы [77, 78]. Характер изменения формы полосы при переходе от группы I к группе III указывает на то, что снижение содержания фосфолипидов в структуре клетки приводит к увеличению степени дифференциации полосы и распаду комплекса с формированием индивидуальных полос (1250 и 1200 см⁻¹), обусловленных колебаниями его высвободившихся компонентов, что сопровождается снижением содержания и качества белковых структур, как показано выше.

Слабые полосы 1172 и 1155 см⁻¹, принадлежащие колебаниям коротко- и длинноцепочечных жирных кислот соответственно [79], входящих в структуру клеточной оболочки, регистрируются только в спектрах некоторых образцов первой группы. Их содержание резко снижается уже при переходе к группе II.

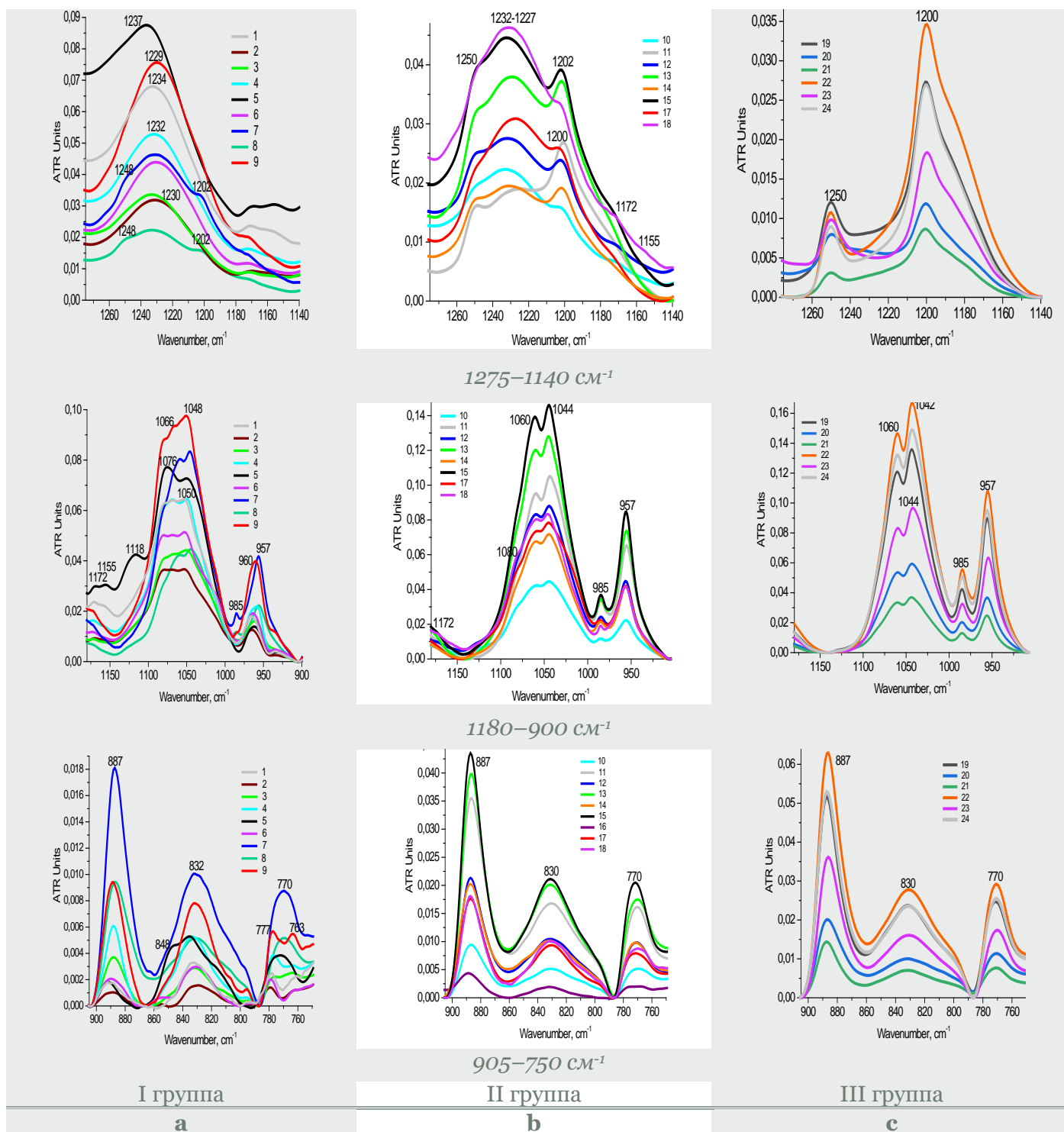


Рисунок 3 – Фрагменты ИК-спектров сперматозоидов по группам
 Figure 3. Fragments of the infrared spectra of spermatozoa by groups

Рядом авторов [49, 53, 54, 56] также наблюдалось снижение концентрации белка и липидов и рост концентрации глюкозы и небелковых азотистых компонентов с прогрессированием в сперме патологии. Однако, как отмечается в работе [56], сдвиги липидного состава эякулята были выявлены не только у мужчин с патологией, но и при нормозооспермии, и это важно учитывать при выяснении причин бесплодия у данной группы мужчин.

Фрагменты 1180–900 см⁻¹ рисунка 3 позволяют отметить:

- заметно варьируемую по фактуре полосу 1100–900 см⁻¹ в спектрах образцов группы I, обусловленную колебаниями структурных элементов (C-O, C-O-C) циклов углеводных компонентов [68, 77]; при переходе от группы I к группе III, по мере снижения содержания белка в составе клетки, стабилизируется

ее фактура и увеличивается интенсивность, о чем говорят и соотношения: $A_{1636-1628}/A_{1048} = 2,30-3,58$ – для группы I и $A_{1653}/A_{1044} = 1,04-1,74$ – для группы II;

➤ аналогичная тенденция роста интенсивности просматривается и для полос 957 и 985 cm^{-1} , характерных в этой области для глико-полипептидных структур;

Во многом подобная ситуация наблюдается и в низкочастотной области 950–750 cm^{-1} , где в виде слабых полос могут регистрироваться конформационные структуры пиранозных форм двух моносахаридов – глюкозы (832, 770, 763 cm^{-1}) и фруктозы (777 cm^{-1}) [77, 78]. Об увеличении содержания глюкозы при снижении качества сперматозоидов говорит полоса 832–830 cm^{-1} и полоса 887 cm^{-1} , принадлежащая также глико-полипептидным комплексам. Обращает на себя внимание и стабилизация рисунка спектров для образцов II и III групп с ухудшением качества клеток.

Отмечая разнообразие полипептидных образований в составе твердой части эякулята, представляется целесообразным для идентификации пептидов, вносящих вклад в процессы патологического характера, включение в эксперимент пептидов Хавинсона [80–83], оказывающих нормализующее действие на репродуктивную систему мужчин.

Рисунок 4 представляет ИК-спектры образцов эякулята, разделенные на группы в соответствии с принятой в данном эксперименте классификацией сперматозоидов. Уже их общий вид позволяет понять, почему при поиске параметров для систематизации исследуемого набора материала выбраны именно спектры сперматозоидов (рисунок 1), а не эякулята.

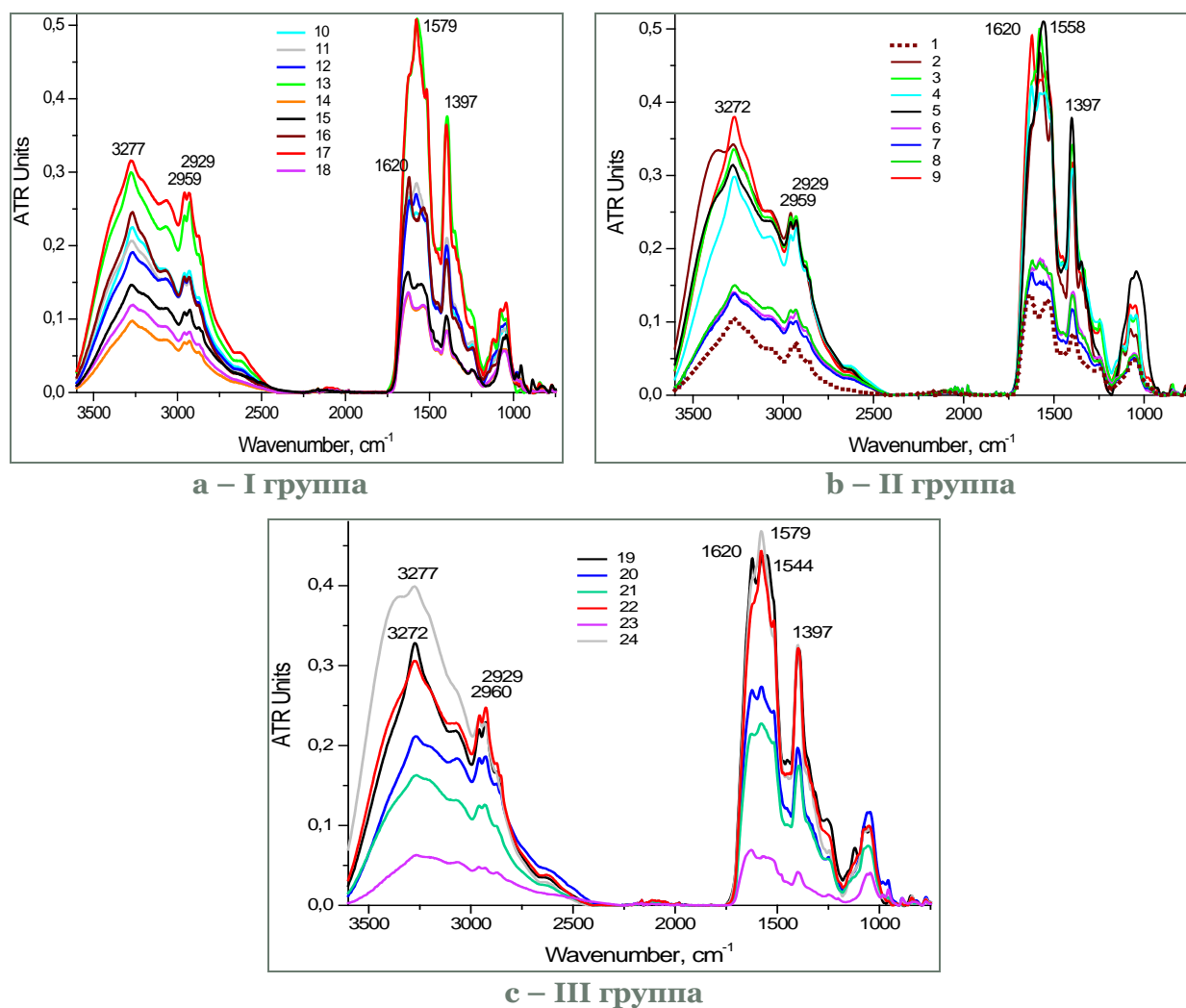


Рисунок 4 – Общий вид ИК-спектров образцов эякулята по группам
 Figure 4. General view of the IR spectra of ejaculate samples by groups

Во многом похожий рисунок спектральных кривых эякулята трех групп не несет той определенности в информации, которая отмечена для спектров выделенных сперматозоидов, не позволяя отделить норму от патологии. С другой стороны, это говорит об определенной общности в вещественном

составе образцов эякулята, который представляет пул многообразных компонентов и их образований. Наиболее важная информация, полученная из данных спектральных кривых, состоит в том, что они наглядно отражают неудовлетворительное качество эякулята практически всех образцов набора, в том числе и группы I, несмотря на хорошее качество сперматозоидов в образцах эякулята этой группы.

Та же картина наблюдается и для спектров плазмы (рисунок 5), еще больше сближающей их рисунки. Близость же фактуры спектральных кривых эякулята и плазмы и их существенное отличие от спектров сперматозоидов (рисунок 1) показывает, что оптические свойства исследуемого набора образцов не вполне качественного эякулята определяют в основном компоненты его жидкой, а не клеточной части. Рисунок же спектра плазмы образца № 1 (рисунок 5а) с резко спадающей правой ветвью максимума 3272 см^{-1} и заметно отличающийся от остальных, указывает на более высокую степень ее чистоты от тех компонентов, которые в той или иной мере могут свидетельствовать о комплексе возможных причин зарождающейся или уже имеющейся патологии в образцах эякулята и группы I. Не менее заметна разница и в более низкочастотной области спектра образца № 1 – полоса 830 см^{-1} говорит о высоком содержании глюкозы, а полосой 1741 см^{-1} представлены колебания C=O-группировок жирных кислот.

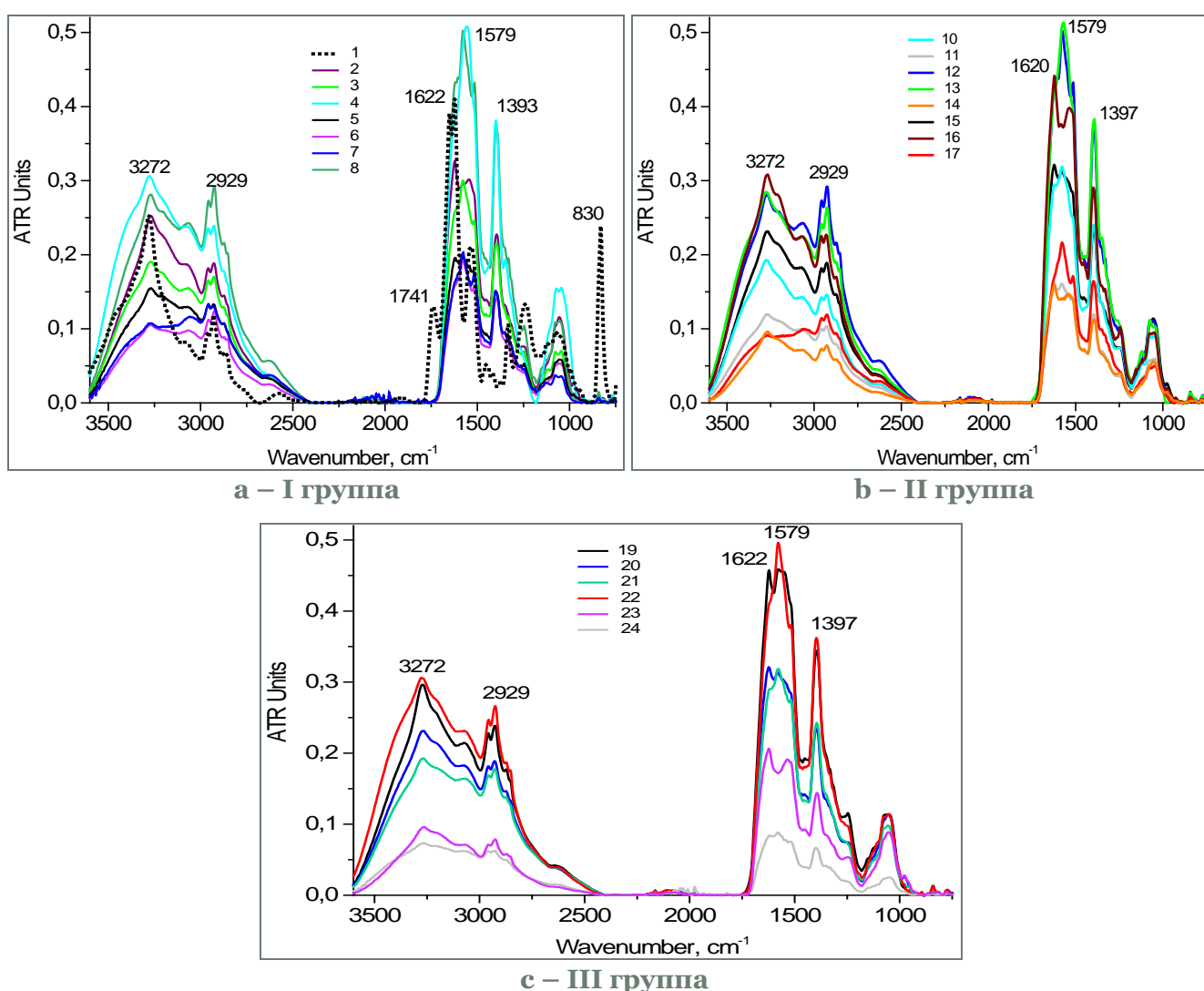


Рисунок 5 – Общий вид ИК-спектров образцов плазмы по группам
 Figure 5. General view of the IR spectra of plasma samples by groups

Анализ фрагментов спектров эякулята и плазмы (рисунок 6) в области, где проявляются колебания C=O-групп пептидной связи белковых структур ($1750\text{--}1500\text{ см}^{-1}$), показывает ту же завуалированную картину независимо от принадлежности образцов к той или иной группе. Сопоставление в данном диапазоне спектров эякулята I–III групп показывает, что только в спектрах образцов № 1 (рисунок 6а) и № 16 (рисунок 6б) имеется четко выраженный дублет полос Амид-I и Амид-II и отсутствуют признаки

полосы 1579 см^{-1} , которая в разной степени выраженности наблюдается в спектрах остальных образцов набора.

Удаление из системы клеток приводит к существенным изменениям в оптических свойствах плазмы образца № 1 (рисунок 6d). Амидный дублет сохраняется, но при этом трансформируется полоса Амид-I с формированием двух максимумов (1653 и 1622 см^{-1}) и несколько меняется положение максимума полосы Амид-II (1536 см^{-1}). Спектры плазмы по сравнению со спектрами эякулята для остальных образцов, в том числе и № 16, показали увеличение интенсивности или проявленности полосы 1579 см^{-1} . Ее исчезновение с формированием дублета амидных полос наблюдалось только в спектре плазмы образца № 23 (рисунок 6g), очевидно связанное с удалением вместе со сперматозоидами большого количества сопутствующих клеток.

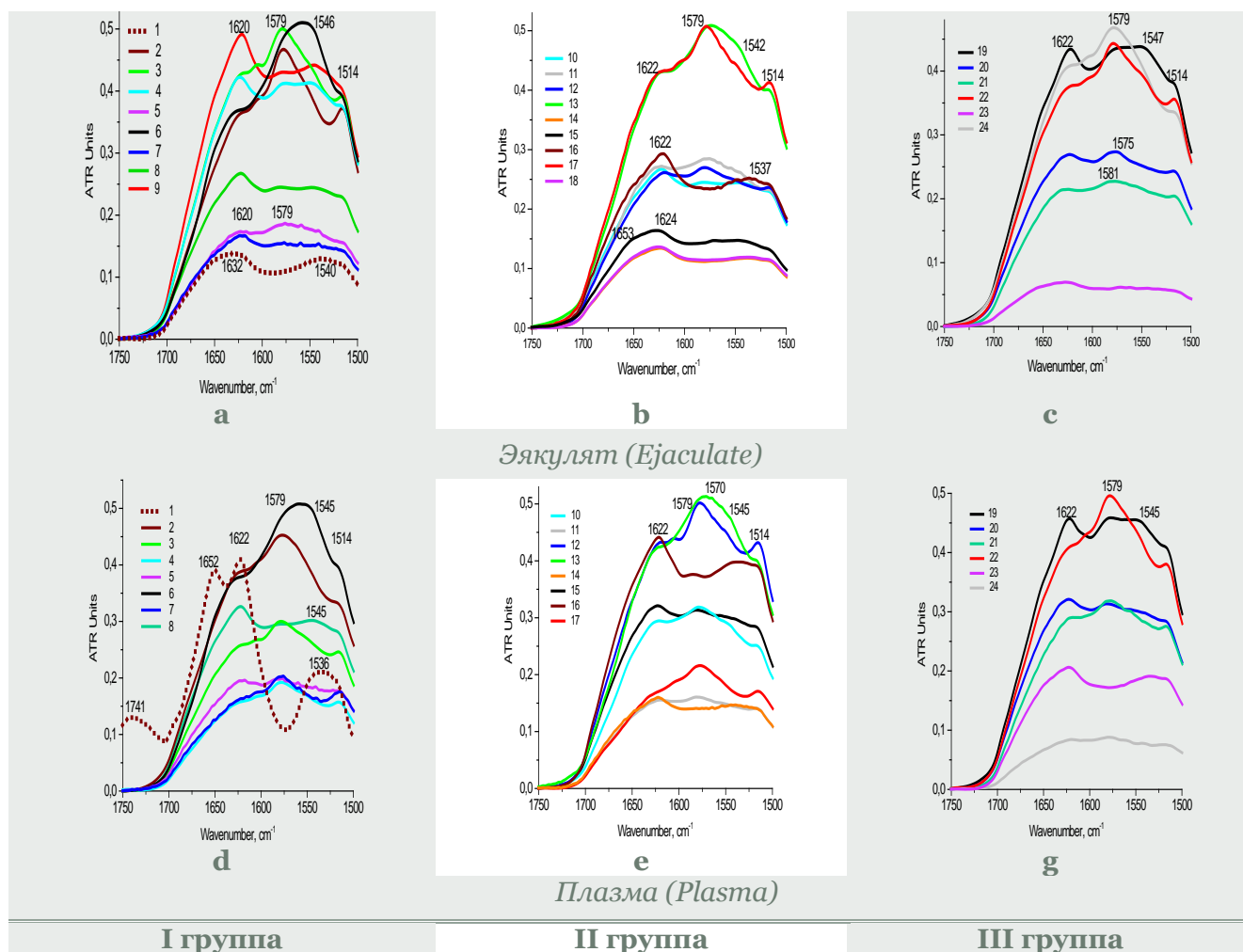


Рисунок 6 – Фрагменты $1750\text{--}1500\text{ см}^{-1}$ ИК-спектров образцов эякулята и плазмы по группам
 Figure 6. Fragments of $1750\text{--}1500\text{ см}^{-1}$ IR spectra of ejaculate and plasma samples by groups

Интересна информация, полученная при анализе спектров белка, выделенного из плазмы 96% этанолом. Рисунок 7 представляет выборку спектров из трех рассматриваемых групп, из которого видно, что, несмотря на существенную разницу в оптических свойствах сперматозоидов I–III групп (рисунок 1), в общем виде спектров белка достаточно хорошо воспроизводится близкая фактура их рисунка во всем тестируемом диапазоне шкалы волновых чисел. А это прежде всего указывает на вполне удовлетворительное структурное состояние белка в образцах плазмы всех трех групп.

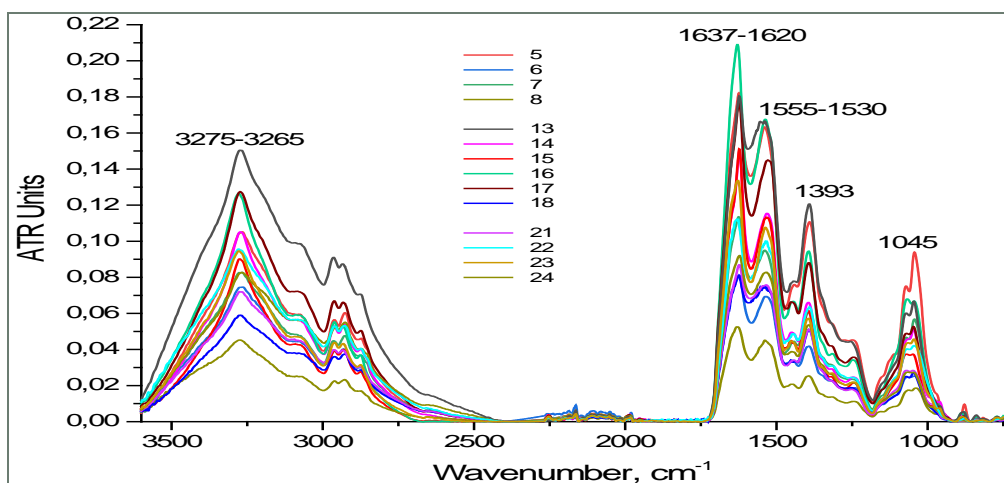


Рисунок 7 – Общий вид выборки ИК-спектров образцов белка трех групп
 Figure 7. General view of the sampling of IR spectra of protein samples of three groups

Пофрагментный анализ спектров (рисунок 8), подтверждает отмеченное. Несмотря на некоторое различие в положении и форме, в спектрах всех образцов белка присутствуют обе хорошо выраженные полосы Амид-I и Амид-II (рисунок 8b). На это указывает и резкий спад правой ветви максимума 3275–3265 cm^{-1} в спектрах рисунка 8a. Поскольку этанол наряду с белком осаждает полипептиды и простые углеводы, на рисунках 8c и 8d представлены фрагменты спектров, обусловленные колебаниями структурных элементов (рисунок 8c) и функциональных группировок пиранозных циклов глюкозы (839–837, 770–768 cm^{-1}) и фруктозы (964, 817–812 cm^{-1}) разных конформационных форм (рисунок 8d). Полипептидные комплексы регистрируются полосами 892–876 cm^{-1} . Можно отметить, что именно в данной области спектра наблюдается наибольший разброс по положению максимумов и форме полос независимо от принадлежности образца к определенной группе.

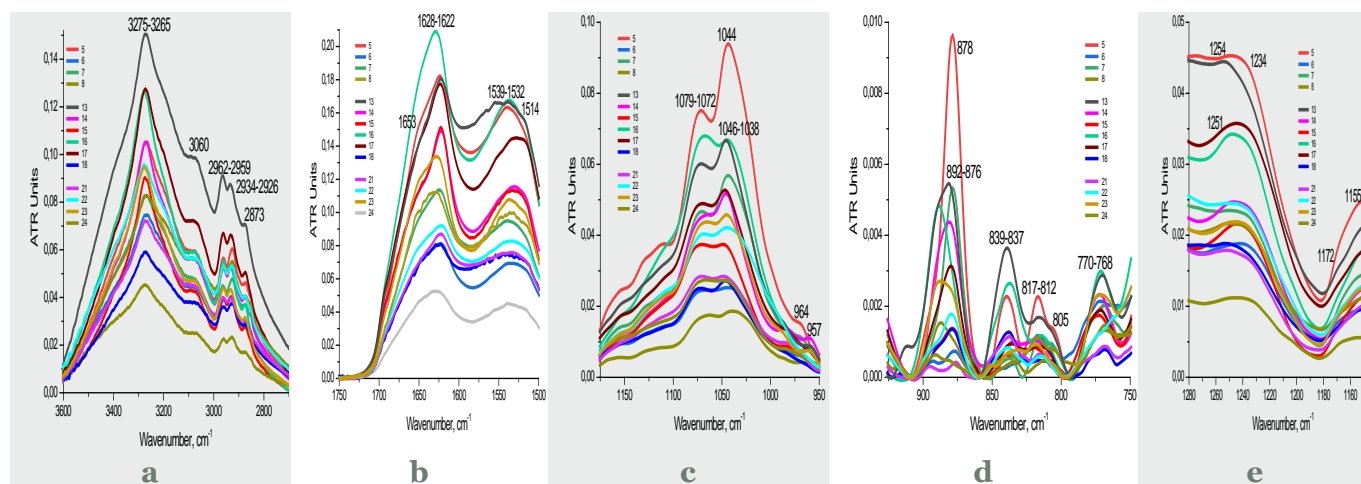


Рисунок 8 – Фрагменты ИК-спектров белка: a) 3600–2600, b) 1750–1500, c) 1175–950, d) 925–750, e) 1280–1240 cm^{-1}
 Figure 8. Fragments of the IR spectra of the protein: a) 3600–2600, b) 1750–1500, c) 1175–950, d) 925–750, e) 1280–1240 cm^{-1}

Отсутствие на фрагментах спектров рисунка 8e признаков полос, обусловленных глюкозой, дает основание полагать, что в спектрах белка в данной области представлены липидо-пептидные комплексы, выделенные при совместном осаждении этанолом. На их вещественный состав указывают полосы в области 1234 cm^{-1} (фосфолипиды) и 1251–1254 cm^{-1} (полипептиды). Полосами слабой интенсивности 1172 и 1155 cm^{-1} позиционируют себя коротко- и длинноцепочечные жирные кислоты.

Не менее интересна информация, предоставленная спектрами надосаочных растворов после выделения из плазмы белка (рисунок 9), общий вид которых говорит об отсутствии в них белковых структур, что прежде всего заметно по рисунку спектральных кривых в высокочастотной области и полосе в области 1581–1572 cm^{-1} .

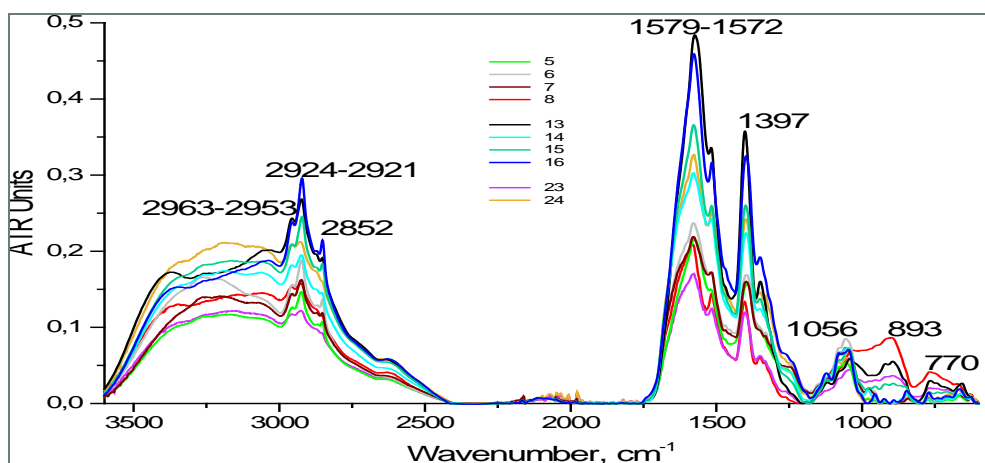


Рисунок 9 – Общий вид выборки ИК-спектров надосаочных растворов
 Figure 9. A general view of the sample of IR spectra of superadded solutions

Анализ их фрагментов (рисунок 10а) показывает, что в области проявления протеинов полосами 1581–1573 и 1514 cm^{-1} регистрируются полипептидные структуры, оставшиеся в плазме после удаления этанолом белка и некоторых их образований. Наиболее показательно в данном эксперименте разнообразие вариантов проявления углеводных компонентов. Здесь можно обратить внимание на образец № 8 по высокой интенсивности полосы 1056 cm^{-1} (рисунок 10б), полосе 976 cm^{-1} и наличию полос 896, 866, 817, 777 cm^{-1} (рисунок 10с), характерных для фруктозы. Глюкоза в его спектре отслеживается только по полосе 839 cm^{-1} , в спектрах других образцов – по полосам в области 898, 851–841 и 770–768 cm^{-1} . Выделение низко лежащих спектров в отдельный рисунок 10д и их сопоставление со спектрами на рисунке 10с показывает, что разделение на группы по проявлению углеводов в данном диапазоне так же не представляется возможным. Следует заметить отсутствие в спектрах надосаочных растворов полипептидной полосы 878 cm^{-1} , характерной для спектров белка (рисунок 8д), заметно отличающихся в данном регионе от спектров надосаочных растворов.

Полосы 1268–1243/1236 cm^{-1} , идентифицирующие глико-пептид-фосфолипидные комплексы (рисунок 10е), в спектрах надосаочных растворов выражены более рельефно. Наличие полос в области 1268–1243 cm^{-1} говорит о присутствии в них пептидов разной молекулярной массы [68], а глюкоза представлена полосами 1197–1191 cm^{-1} . В спектрах образцов № 6, № 7 и № 24 полосой 1175 cm^{-1} выделяется фруктоза. Достаточно наглядно в спектрах всех образцов полосой 1155 cm^{-1} регистрируются длинноцепочечные жирные кислоты и менее выражены короткоцепочечные – 1172 cm^{-1} .

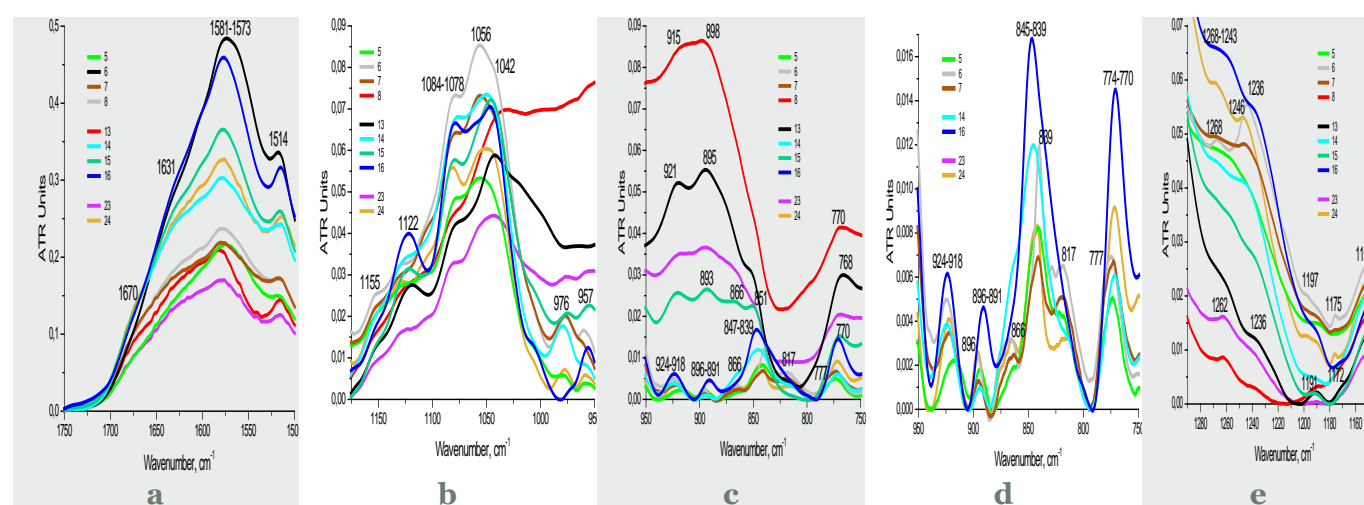


Рисунок 10 – Фрагменты ИК-спектров надосаочных растворов: а) 1750–1500; б) 1175–950; в, д) 950–750; е) 1280–1140 cm^{-1}

Figure 10. Fragments of the IR spectra of the above solutions: a) 1750–1500; б) 1175–950; в, д) 950–750; е) 1280–1140 cm^{-1}

Полученные предварительные результаты показали, что разделение в данном эксперименте набора образцов эякулята в норме на две группы по сути отвечает предложению экспертов шестого издания руководства ВОЗ по введению в протокол диагностики мужского бесплодия так называемой «серой зоны» как переходной между нормой и олигозооспермией. А также то, что практически 50% образцов (группа II), отнесенных, согласно действующим нормативам 2010 года, к категории норма, оказываются заметно обремененными патологическими процессами. Под вопросом, согласно анализу спектров эякулята и плазмы (рисунок 5 и 6), остаются и образцы группы I. В таких ситуациях обычно более определенно дает ответ наличие качественного образца эякулята.

Исследование эякулята образца № 1 и его основных составляющих (рисунок 11) позволило отметить аналогию рисунка спектров 1–4 во всем рассматриваемом диапазоне шкалы волновых чисел. А это говорит о том, что общее состояние вещественного состава клеток (кривая 2) адекватно отражает вещественный состав эякулята и плазмы, чего не наблюдалось практически ни для одного образца эякулята в составе набора «норма». Учитывая, что здоровые мужчины, как правило, не проходят подобные исследования, а верхние пороговые значения референсных интервалов занижены, приходится говорить о несоответствии статистического процента фертильных мужчин, о его завышении. Спектры качественных образцов плазмы и эякулята приведены во многих публикациях [69, 75].

Возвращаясь к общему виду спектров образца № 1, можно отметить:

- ✓ высокое положение спектра белка, обусловленное очень большим его содержанием в плазме (таблица), и сопутствующим осаждением этанолом углеводных (1046 см^{-1}) и пептидных (878 см^{-1}) компонентов;
- ✓ положение максимума 3275 см^{-1} в спектре белка относительно стабильного положения в спектрах эякулята, плазмы и сперматозоидов – 3272 см^{-1} ;
- ✓ противоположное соотношение интенсивности полос в области валентных асимметричных и симметричных колебаний CH_n -группировок ($2973\text{--}2959$ и $2929\text{--}2925\text{ см}^{-1}$) в спектрах сперматозоидов и белка;
- ✓ исчезновение в спектре надосадочного раствора полос Амид-I и Амид-II и проявление полосы пептидов – 1579 см^{-1} .

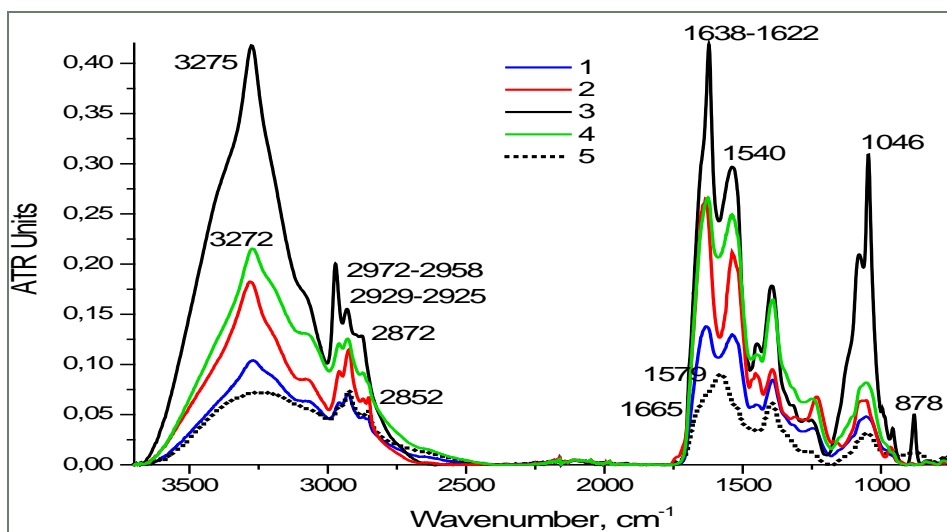


Рисунок 11 – Общий вид ИК-спектров составных частей эякулята №1: 1 – эякулят, 2 – сперматозоиды, 3 – белок, 4 – плазма, 5 – НОР

Figure 11. General view of the IR spectra of the components of ejaculate no. 1: 1 – ejaculate, 2 – spermatozoa, 3 – protein, 4 – plasma, 5 – NOR

Анализ фрагментов, где идентифицируются углеводные компоненты и сложные глико-пептид-липидные комплексы, показывает:

- ✓ в составе всех образцов присутствует фруктоза (рисунок 12а), а положение максимума 1053 см^{-1} говорит о ее доминирующем статусе [73]; однако в спектрах эякулята и плазмы (кривые 1, 4), она проявляется в виде растворимой α -пиранозной формы (976 см^{-1}), а в структуре сперматозоидов – нерастворимой β -пиранозной (964 см^{-1}); глюкоза в данном диапазоне спектра может только угадываться

по слабовыраженному плечу 988 см^{-1} (растворимая β -пиранозная форма, кривые 1 и 4); полоса 957 см^{-1} также присутствует только в спектрах образцов жидкой консистенции;

✓ в более низкочастотном диапазоне (рисунок 12b) оба моносахарида представлены четко выраженными полосами: фруктоза – $866, 817, 777\text{ см}^{-1}$ (в спектре сперматозоидов – кривая 2, полосы 866 и 817 см^{-1} отсутствуют) и глюкоза – $838-832$ и $775-761\text{ см}^{-1}$;

✓ оптические свойства глико-пептид-фосфолипидного комплекса (рисунок 12c) лучше всего отражает широкая симметричная полоса в спектре сперматозоидов, охватывающая диапазон $1260-1180\text{ см}^{-1}$, с максимумом 1234 см^{-1} , обусловленным колебаниями PO_2 -группировки фосфатной головы фосфолипидов; пептидная составляющая комплекса в данном диапазоне представлена полосами $1240, 1248, 1252/1272\text{ см}^{-1}$ в спектрах эякулята, плазмы и белка соответственно, что может указывать на их различие по молекулярной массе в зависимости от исследуемой системы; глюкоза слабой полосой 1202 см^{-1} проявила себя только в спектре белка;

✓ фрагменты на рисунке 12d иллюстрируют изменение характера спектральных кривых и проявленности полос коротко- и длинноцепочечных липидов ($1172, 1155\text{ см}^{-1}$) в зависимости от агрегатного состояния образца.

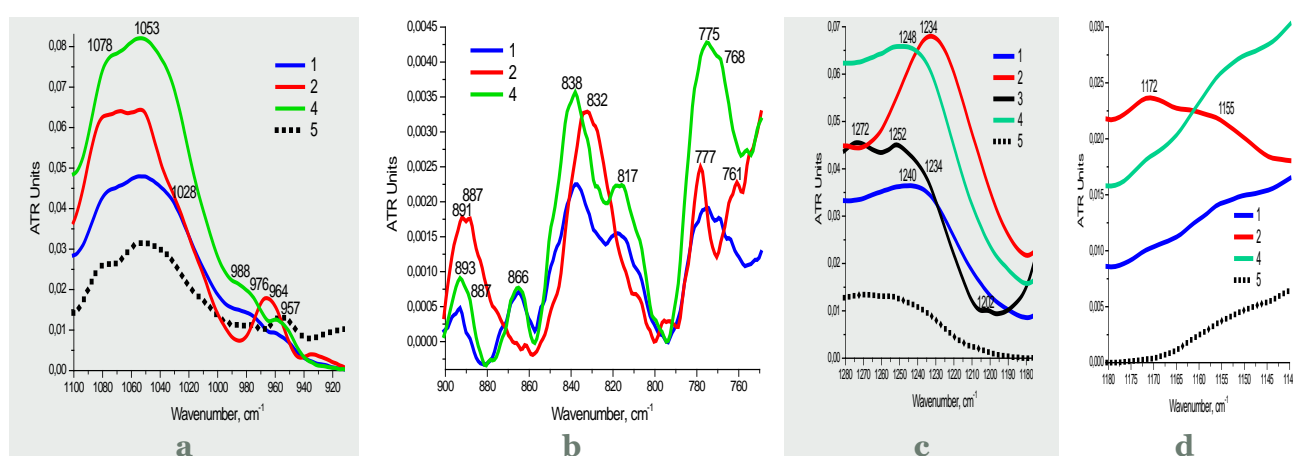
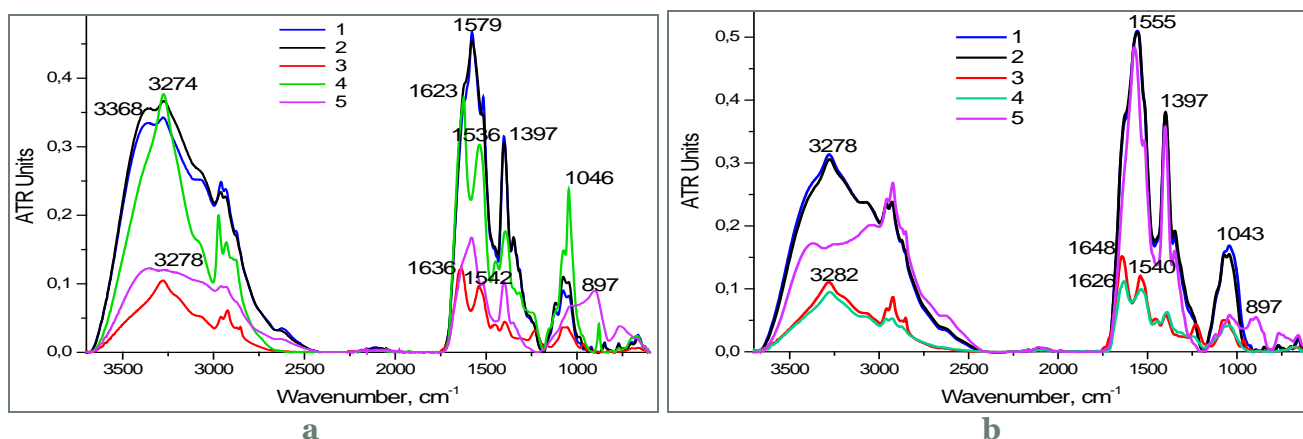
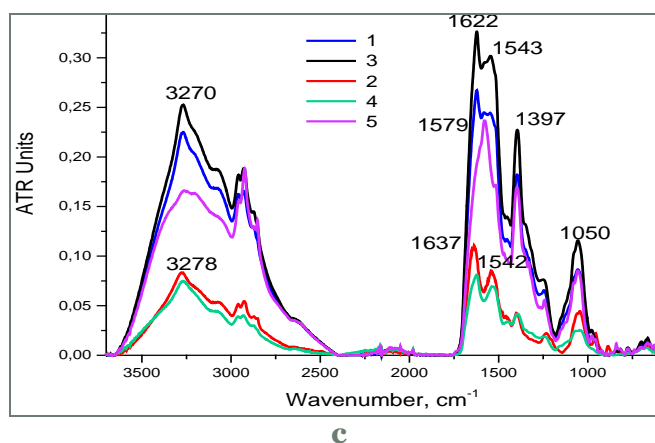


Рисунок 12 – Фрагменты ИК-спектров составных частей эякулята № 1: а) $1100-900$, б) $900-750$, в) $1280-1170$, д) $1180-1140\text{ см}^{-1}$; 1 – эякулят, 2 – сперматозоиды, 3 – белок, 4 – плазма, 5 – НОР
 Figure 12. Fragments of the IR spectra of the components of ejaculate no. 1: a) $1100-900$, b) $900-750$, c) $1280-1170$, d) $1180-1140$; 1 – ejaculate, 2 – sperm, 3 – protein, 4 – plasma, 5 – NOR

Для наглядной иллюстрации того, к чему может приводить занижение верхнего порогового значения референсного интервала нормозооспермии, на рисунке 13 приведены спектры трех наиболее типичных для группы I образцов эякулята и их составных частей. Общий вид спектров показывает, что по характеру спектральных кривых эякулята и плазмы в высокочастотной области и в области полос Амид-I и Амид-II они никак не могут быть отнесены к категории «норма», так как признаки патологии на лицо даже при беглом взгляде, особенно при сопоставлении со спектрами на рисунке 11.





с

Рисунок 13 – Общий вид ИК-спектров эякулята (1) и его составных частей: 2 – плазма, 3 – сперматозоиды, 4 – белок, 5 – НОР образцов группы I: а) № 2, б) № 6, в) № 8

Figure 13. General view of the IR spectra of the ejaculate (1) and its components: 2 – plasma, 3 – spermatozoa, 4 – protein, 5 – NOR of group I samples: a) no. 2, b) no. 6, c) no. 8

- Анализ фрагментов протеиновой области спектров для этих образцов (рисунок 14) показывает:
- ✓ нарушение спектрального облика белковой структуры по-разному, но проявляется в спектрах и эякулята, и плазмы всех образцов; появление между полосами Амид-I и Амид-II серии полос в области 1579–1555 cm^{-1} ;
 - ✓ фактура рисунка спектров плазмы и эякулята не отвечает фактуре спектров сперматозоидов;
 - ✓ различие в положении максимумов полос Амид-I и Амид-II в спектрах сперматозоидов.

Отмеченное показывает, что поскольку нормальные по спектральным показателям сперматозоиды еще обнаруживаются в эякуляте с уже явно выраженной патологией, именно тонкое изменение оптических характеристик эякулята и плазмы может с определенной достоверностью указывать на начало негативных процессов и их характер. А различия в положении амидных полос и их структуре, в сочетании со специфическими проявлениями пептидных, липидных, углеводных компонентов в других областях спектра, может способствовать выявлению различных направлений развивающейся патологии с разделением исследуемого материала на подгруппы.

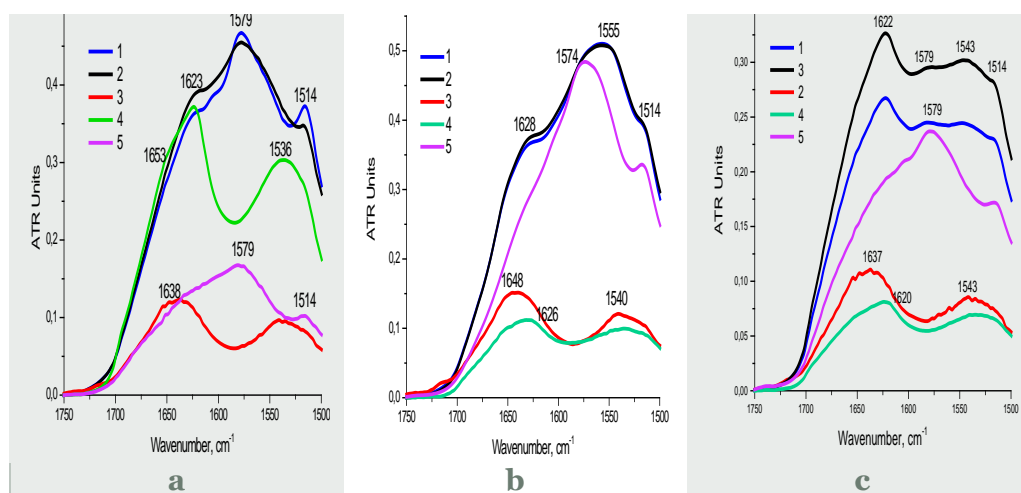


Рисунок 14 – Фрагменты 1750–1500 cm^{-1} ИК-спектров эякулята (1) и его составных частей: 2 – плазма, 3 – сперматозоиды, 4 – белок, 5 – НОР образцов группы I: а) № 2, б) № 6, в) № 8

Figure 14. Fragments of 1750–1500 cm^{-1} IR spectra of ejaculate (1) and its components: 2 – plasma, 3 – spermatozoa, 4 – protein, 5 – NOR of group I samples: a) no. 2, b) no. 6, c) no. 8

Сопоставление результатов спектрального анализа с показателями спермограмм (таблица) на данном этапе, в связи с недостаточностью объема набора образцов, позволяет говорить только о наблюдаемой тенденции в снижении концентрации сперматозоидов, белка, живых и подвижных клеток с ухудшением качества сперматозоидов, поскольку клетки и плазма существенно различаются по соотношению белок-полипептидных, липидных и углеводных компонентов в пределах одной группы категории «норма».

Выводы

Применение метода Фурье ИК-спектроскопии для исследования серии образцов эякулята в норме и с олигозооспермией (по данным спермограмм) показало его возможности в объективной оценке более четких границ и диапазона переходной «серой зоны» по спектральным характеристикам эякулята и плазмы. Основными показателями для нормозооспермии является наличие структурно правильно сформированных полос Амид-I и Амид-II в спектрах и эякулята, и плазмы, и отсутствие в их составе полос в области 1593–1572 см⁻¹, являющихся проявлением в оптических свойствах исследуемых образцов признаков зарождающейся или уже имеющейся патологии.

Анализ полученных данных позволяет полагать, что увеличение объема тестируемого материала позволит в динамике оценить степень влияния тех или иных вещественных факторов (протеины, липиды, углеводы), их многообразных комплексов и конформационных структур на развитие патологии в пределах каждой зоны при общей тенденции к ухудшению качества сперматозоидов и эякулята в целом. А по совокупности и ряду специфических спектральных показателей ближе подойти к выявлению более персонализированных негативных факторов в пределах возможных подзон «серой зоны».

Литература

1. Быков В.Л. Сперматогенез у мужчин в конце XX века (обзор литературы) // Проблемы репродукции. 2000. № 1. С. 10–21.
2. Wu F.C., Bancroft J.H. Male infertility. *Brit. Med. J. (Clin Res Ed.)*, 1985, V. 290, Is. 6479, pp. 1417–1420. DOI: 10.1136/bmj.290.6479.1417
3. Гаспаров А.С., Назаренко Т.А. Репродуктивное здоровье. Бесплодие как медико-социальная проблема. М.: НЦ АГиП РАМН, 2000. 56 с.
4. Гилмюйден Н.К. Мужской фактор. Почему снижается качество спермы и как остановить этот процесс? М.: Эксмо, 2021. 352 с.
5. Божедомов В.А., Теодорович О.В. Эпидемиология и причины аутоиммунного мужского бесплодия // Урология. 2005. № 1. С. 35–44.
6. Auger J., Eustache F., Chevrier C., Jégou B. Spatiotemporal trends in human semen quality. *Nat. Rev. Urol.* 2022, V. 19, Is. 10, pp. 597–626. DOI: 10.1038/s41585-022-00626-w
7. Алиев Р.Т., Алиев Р.Р., Пикалов С.М. Особенности показателей эякулята и способы коррекции нарушений сперматогенеза у мужчин различных возрастных групп // Эффективная фармакотерапия. 2019. Т. 15. № 16. С. 26–33. DOI: 10.33978/2307-3586-2019-15-16-26-33
8. Kumar N., Singh A. Trends of male factor infertility, an important cause of infertility: A review of literature. *J. Hum. Reprod. Sci.* 2015, V. 8, Is. 4, pp. 191–196. DOI: 10.4103/0974-1208.170370
9. Agarwal A., Mulgund A., Hamada A., Chyatte M. A unique view on male infertility around the globe. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2015, V. 13, article 37. DOI: 10.1186/s12958-015-0032-1
10. Le Moal J., Rolland M., Gorla S. et al. Semen quality trends in French regions are consistent with a global change in environmental exposure. *Reproduction.* 2014, V. 147, Is. 4, pp. 567–574. DOI: 10.1530/REP-13-0499
11. López-Teijón M., Elbaile M., Alvarez J.G. Geographical differences in semen quality in a population of young healthy volunteers from the different regions of Spain. *Andrologia*, 2008, V. 40, Is. 5, pp. 318–328. DOI: 10.1111/j.1439-0272.2008.00862.x
12. Eisenberg M., Li Sh., Behr B. Semen quality, infertility and mortality in the USA. *Hum. Reprod.*, 2014, V. 29, pp. 1567–1574. DOI: 10.1093/humrep/deu106
13. Iwamoto T., Nozawa S., Yoshiike M. Semen quality of Asian men. Review. *Reprod Med Biol.* 2007, V. 6, Is. 4, pp. 187–193. DOI: 10.1111/j.1447-0578.2007.00184.x
14. Gao J., Gao E., Yang Q., Walker M., Wu J.Q., Zhou W.J., Wen S.W. Semen quality in a residential, geographic and age representative sample of healthy Chinese men. *Hum. Reprod.* 2007, V. 22, pp. 477–484. DOI: 10.1093/humrep/del383
15. Зайратьянц О.В., Ковальский Г.Б., Рыбакова М.Г. Медико-демографические показатели. Россия – XX век и начало XXI века // Главврач. 2008. № 3. С. 57–79.
16. Лебедев Г.С., Голубев Н.А., Шадеркин И.А., Шадеркина В.А., Аполухин О.И., Сивков А.В., Комарова В.А. Мужское бесплодие в Российской Федерации: статистические данные за 2000–2018 годы // Экспериментальная и клиническая урология. 2019. Т. 4. С. 4–13. DOI: 10.29188/2222-8543-2019-11-4-4-12
17. Osadchuk L., Shantanova L., Troev I., Kleshchev M., Osadchuk A. Regional and ethnic differences in semen quality and reproductive hormones in Russia: A Siberian population-based cohort study of young men. *Andrology.* 2021, V. 9, Is. 5, pp. 1512–1525. DOI: 10.1111/andr.13024
18. Щеплев П.А., Аполухин О.И. Мужское бесплодие. Обсуждение консенсуса // Вестник репродуктивного здоровья. 2010. № 3-4. С. 37–44. DOI: <https://doi.org/10.14341/brh20103-437-44>

19. Сухих Г.Т., Божедомов В.А. Мужское бесплодие. Практическое руководство для урологов и гинекологов. М.: Эксмо, 2009. 240 с.
20. Мурский С.И. Роль биохимических показателей спермальной плазмы в лабораторной диагностике репродуктивной функции мужчин: дис ... канд. мед. наук. СПб. 2020. 194 с.
21. Павлов В.Н., Галимова Э.Ф., Терезулов Б.Ф., Кайбышев В.Т., Галимов Ш.Н. Молекулярные и метаболические аспекты мужского бесплодия // Вестник урологии. 2016. № 2. С. 40–59. DOI: <https://doi.org/10.21886/2308-6424-2016-0-2-40-59>
22. Louis G.M. Male fecundity and its implications for health and disease across the lifespan. *Hum. Reprod.*, 2014, V. 29, Is. 7, pp. 1351–1352. DOI: [10.1093/humrep/deu108](https://doi.org/10.1093/humrep/deu108)
23. Houston B.J., Riera-Escamilla A., Wygroll M.J., Salas-Huetos A., Xavier M.J. et al. A systematic review of the validated monogenic causes of human male infertility: 2020 update and a discussion of emerging gene-disease relationships. *Hum. Reprod. Update.* 2021, V. 28, Is. 1, pp. 5–29. DOI: [10.1093/humupd/dmab030](https://doi.org/10.1093/humupd/dmab030)
24. Сухих Г.Т., Назаренко Т.А. Бесплодный брак. Руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. 784 с.
25. Касимова Т.В., Богданов Ю.А., Кузнецов И.Д., Карпунина Т.И. Микрофлора эякулята как потенциальная причина репродуктивных проблем // Фундаментальные исследования. 2012. № 2-2. С. 308–310.
26. Яковлев И.Б., Апрятина В.А., Петленко С.В. Лекарственно-индуцированная мужская инфертильность // Проблемы репродукции. 2022. Т. 28. № 3. С. 110–119. DOI: [10.1017/16/gerpro202228031110](https://doi.org/10.1017/16/gerpro202228031110)
27. Барсуков А.А., Щербаков Д.В., Лыткина С.В., Чуринов А.С. Влияние факторов питания на показатели эякулята у молодых мужчин // Современные проблемы науки и образования. 2018. № 6.
28. Sobreiro B.P., Lucon A.M., Pasqualotto F.F., Hallak J., Athayde K.S., Arap S. Semen analysis in fertile patients undergoing vasectomy: reference values and variations according to age, length of sexual abstinence, seasonality, smoking habits and caffeine intake. *Sao Paulo Med. J.* 2005, V. 123, Is. 4, pp. 161–166. DOI: [10.1590/s1516-31802005000400002](https://doi.org/10.1590/s1516-31802005000400002)
29. Sharma R., Harlev A., Agarwal A., Esteves S.C. Cigarette smoking and semen quality: A new meta-analysis examining the effect of the 2010 world health organization laboratory methods for the examination of human semen. *Eur. Urol.* 2016, V. 70, Is. 4, pp. 635–645. DOI: [10.1016/j.eururo.2016.04.010](https://doi.org/10.1016/j.eururo.2016.04.010)
30. Ricci E., Al Beitawi S., Cipriani S., Candiani M., Chiaffarino F., Viganò P., Noli S., Parazzini F. Semen quality and alcohol intake: a systematic review and meta-analysis. *Reprod. Biomed. Online.* 2017, V. 34, Is. 1, pp. 38–47. DOI: [10.1016/j.rbmo.2016.09.012](https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2016.09.012)
31. Chua S.C., Yovich S.J., Hinchliffe P.M., Yovich J.L. Male clinical parameters (age, stature, weight, body mass index, smoking history, alcohol consumption) bear minimal relationship to the level of sperm DNA fragmentation. *J. Pers. Med.* 2023, V. 13, Is. 5, article 759. DOI: [10.3390/jpm13050759](https://doi.org/10.3390/jpm13050759)
32. Lutskii D.L., Vybornov S.V., Lutskaiia A.M., Goncharova L.A., Makhmudov R.M. Influence of chemical agents on male reproductive system (a review): Part I: Metals. Part II: Organic Solvents and Pesticides. Part III: Toxic Agents in Sperm. *Russian Journal of Human Reproduction.* 2009, no. 6, pp. 48–64.
33. Галимова Э.Ф. Молекулярные и клеточные механизмы функционирования мужской репродуктивной системы в условиях экстремальных и фоновых воздействий различной природы и интенсивности: автореф. дис ... д-ра мед. наук. М., 2016. 48 с.
34. Галимов Ш.Н., Гизатуллин Т.Р., Фархутдинов, Галимова Э.Ф., Сивочалова О.В. Молекулярные маркеры фертильности эякулята у сотрудников спецподразделений МВД в условиях боевого стресса // Медицина труда и промышленная экология. 2009. № 10, С. 36–39.
35. Галимов Ш.Н., Камитов Ф.Х., Аглетдинов Э.Ф., Громенко Д.С. и др. Синдром андрогенной недостаточности как маркер техногенного загрязнения среды обитания // Проблемы репродукции. 2002. Т. 8. № 1. С. 46–50.
36. Сагалов А.В. Амбулаторно-поликлиническая андрология. М: ГЭОТАР-Медиа. 2017. 528 с.
37. Bjoerndahl L., Mortimer. D., Barratt C.L.R., Castilla J.A., et al. *A practical guide to basic laboratory andrology.* Cambridge University Press. 2010. 357 p. DOI: <https://doi.org/10.1017/CBO9780511729942>
38. Руководство ВОЗ по исследованию и обработке эякулята человека // Медико-генетический научный центр РАМН. М.: Капитал принт. 2012. 305 с.
39. Оленин Ю.В., Д.М. Монаков Д.М. Клиническое значение морфологии сперматозоидов в выборе метода лечения мужского бесплодия. Обзор литературы // Экспериментальная и клиническая урология. 2021. Т. 14. № 3. С. 127–132. DOI: [10.29188/2222-8543-2021-14-3-127-132](https://doi.org/10.29188/2222-8543-2021-14-3-127-132)
40. Lefievre L., Bedu-Addo K., Conner S. et al. Counting sperm does not add up anymore: time for a new equation? *Reproduction.* 2007, V. 133, Is. 4, pp. 675–684. DOI: [10.1530/REP-06-0332](https://doi.org/10.1530/REP-06-0332)
41. Bjoerndahl L., Haugen T.B. Hva forteller en saedanalyse? [The information contained in a semen analysis]. *Tidsskr Nor Laegeforen.* 2008, V. 128, Is. 3, pp. 320–323.
42. Lewis S.E. Is sperm evaluation useful in predicting human fertility? *Reproduction.* 2007, V. 134, Is. 1, pp. 31–40. DOI: [10.1530/REP-07-0152](https://doi.org/10.1530/REP-07-0152)
43. Хайрутдинов К.Н., Ситдыкова М.Э., Зубков А.Ю. Мужское бесплодие – проблема XXI века // Практическая

- медицина. 2018. Т. 16. № 6. С. 185–189. DOI: 10.32000/2072-1757-2018-16-6-185-189
44. Данилов В.В., Лельчук С.А. Количественная оценка спермограммы у мужчин на основе интервальной шкалы // Андрология и генитальная хирургия. 2013. № 1. С. 44–48.
45. Олефир Ю.В., Виноградов И.В., Родионов М.А., Живулько А.Р., Попов Д.М., Монаков Д.М. Шестое руководство ВОЗ по обработке и исследованию эякулята: все новое – это хорошо забытое старое? // Вестник урологии. 2023. Т. 11. № 1. С. 171–176. DOI: 10.21886/2308-6431-2023-11-1-171-176
46. Agarwal A., Baskaran S., Parekh N., Cho C.L., Henkel R., Vij S., Arafa M. et al. Male infertility. *Lancet*. 2021, V. 397, Is. 10271, pp. 319–333. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)32667-2.
47. Wang Ch., Mbizvo M., Mario P Festin M.P., Björndahl L., Toskin I. Evolution of the WHO "Semen" processing manual from the first (1980) to the sixth edition (2021). *Fertil Steril*. 2022, V. 117, Is. 2, pp. 237–245. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2021.11.037
48. Галимов Ш.Н., Громенко Ю.Ю., Галимов К.Ш., Э.Ф. Галимова Э.Ф., Бодрова Е.С., Булыгин К.В., Литвицкий П.Ф. Молекулярные механизмы мужского бесплодия: основные направления научного поиска // Урология. 2022. № 4. С 114–117. DOI: 10.18565/urology.2022.4.114-117
49. Гусякова О.А., Мурский С.И., Тукманов Г.В., Комарова М.В. Особенности метаболического состава спермальной плазмы при различных морфофункциональных патологиях эякулята // Клиническая лабораторная диагностика. 2019. Т. 64. № 8. С. 469–476. DOI: 10.18821/0869-2084-2019-64-8-469-476.
50. Kant K., Tomar A.K., Sharma P., Kundu B., Singh S., Yadav S. Human epididymis protein 4 quantification and interaction network analysis in seminal plasma. *Protein Pept Lett.*, 2019, V. 26, Is. 6, pp. 458–465. DOI: 10.2174/0929866526666190327124919.
51. Barazani Y., Agarwal A., Sabanegh E. Functional sperm testing and the role of proteomics in the evaluation of male infertility. *Urology*. 2014, V. 84, Is. 2, pp. 255–261. DOI: 10.1016/j.urology.2014.04.043
52. Луцкий Д.Л., Николаев А.А., Ложкина Л.В. Белковый спектр эякулятов различной фертильности // Урология и нефрология. 1998. № 2. С. 48–52.
53. Хасанова Е.М., Ганковская Л.В., Греченко В.В., Свитич О.А. Значение пептидов семейства β -дефензинов в снижении мужской репродуктивной функции // Иммунология. 2021. Т. 42. № 5. С. 470–479. DOI: 10.33029/0206-4952-2021-42-5-470-479
54. Chen S., Wang M., Li L., Wang J., Ma X., Zhang H. et al. High-coverage targeted lipidomics revealed dramatic lipid compositional changes in asthenozoospermic spermatozoa and inverse correlation of ganglioside GM3 with sperm motility. *Reprod. Biol. Endocrinol*, 2021, V. 19, Is. 1 article 105. DOI: 10.1186/s12958-021-00792-3
55. Хышиктуев Б.С., Кошмелев А.А. Особенности изменений фосфолипидного состава семенной жидкости у мужчин с нарушением фертильности // Клиническая лабораторная диагностика. 2010. № 7. С. 27–31.
56. Антонов М.П., Жигулина В.В. Липиды сперматозоидов и спермоплазмы эякулята у мужчин с бесплодием // Проблемы репродукции. 2012. № 4. С. 71–75.
57. Кошмелев А.А. Патогенетическая роль изменений фосфолипидного и перекисного статуса эякулята при нарушении фертильности у мужчин: автореф. дис ... канд. мед. наук. Чита, 2012. 23 с.
58. Williams A.C., Ford W.C. The role of glucose in supporting motility and capacitation in human spermatozoa. *J Androl.*, 2001, V. 22, Is. 4, pp. 680–695.
59. Иштулин А.Ф. Взаимосвязь биохимических показателей спермоплазмы с подвижностью сперматозоидов у пациентов с бесплодием: дис. ... канд. мед. наук. Рязань, 2023. 124 с.
60. Tsujii H., Ohta E., Miah A.G., Hossain S., Salma U. Effect of fructose on motility, acrosome reaction and *in vitro* fertilization capability of boar spermatozoa. *Reprod Med Biol*. 2006, V. 5, Is. 4, pp. 255–261. DOI: 10.1111/j.1447-0578.2006.00150.x
61. Clark G.F. The role of carbohydrate recognition during human sperm-egg binding. *Hum Reprod*. 2013, V. 28, Is. 3, pp. 566–577. DOI: 10.1093/humrep/des447
62. Тюзиков И.А., Калинин С.Ю., Ворслов Л.О., Тишова Ю.А. Мужское бесплодие и инсулинорезистентность: есть ли патогенетические связи и кто, когда и как должен диагностировать и лечить их? // Экспериментальная клиническая урология. 2014. № 2. С. 68–75.
63. Zhang Z., Zhang J., Huang Sh., He X., Deng L. Double sperm cloning (DSC) is a promising strategy in mammalian genetic engineering and stem cell research. *Stem Cell Research and Therapy*. 2020, V. 11, Is. 1, article 388. DOI: 10.1186/s13287-020-01907-0
64. Lombo M., Ruiz-Díaz S., Gutiérrez-Adán A., Sánchez-Calabuig M. Sperm metabolomics through nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Animals* (Basel). 2021, V. 11, Is. 6, article 1669. DOI: 10.3390/ani11061669
65. Mallidis C., Sanchez V., Wistuba J., Wuebbeling F., Burger M., Fallnich C., Schlatt S. Raman microspectroscopy: shining a new light on reproductive medicine. *Human Reproduction Update*. 2014, V. 20, Is. 3, pp. 403–414. DOI: 10.1093/humupd/dmt055
66. Huang Z., Chen X., Chen Y., Chen J., Dou M., Feng S., Zeng H., Chen R. Raman spectroscopic characterization and differentiation of seminal plasma. *J. Biomed Opt.* 2011, V. 16, Is. 11, article 110501. DOI: 10.1117/1.3650310
67. Barcot O., Balarin M., Gamulin O., Jezek D., Romac P., Brnjas-Kraljević J. Investigation of spermatozoa and

- seminal plasma by Fourier transform infrared spectroscopy. *Appl. Spectrosc.*, 2007, V. 61, Is. 3, pp. 309–313. DOI: 10.1366/000370207780220804.
68. Pachetti M., Zupin L., Venturin I., Mitri E., Boscolo R., D'Amico F. et al. FTIR spectroscopy to reveal lipid and protein changes induced on sperm by capacitation: Bases for an improvement of sample selection in ART. *Int J Mol Sci.* 2020, V. 21, Is. 22, article 8659. DOI: 10.3390/ijms21228659.
69. Zha S., Wei X., Fang R., Wang Q., Lin H., Zhang K., Zhang H., Liu R. et al. Estimation of the age of human semen stains by attenuated total reflection Fourier transform infrared spectroscopy: A preliminary study. *Forensic Sci. Res.* 2019, V. 5, Is. 2, pp. 119–125. DOI: 10.1080/20961790.2019.1642567
70. Das T., Ammal A., Harshey A., Mishra V., Srivastava A. Vibrational spectroscopic approaches for semen analysis in forensic investigation: State of the art and way forward. *Microchemical Journal.* 2021, V. 171, article 106810. DOI: 10.1016/j.microc.2021.106810
71. Wei X., Yu K., Wu D., Huang P., Sun Q., Wang Z. Species identification of semen stains by ATR-FTIR spectroscopy. *Int J Legal Med.* 2021, V. 135, Is. 1, pp. 73–80. DOI: 10.1007/s00414-020-02367-0
72. Нечипоренко А.П., Ситникова В.Е., Нечипоренко У.Ю., Коноваленко А.В. Инфракрасная фурье-спектроскопия в исследовании проявлений патологии сперматозоидов // Вестник Санкт-Петербургского университета. Медицина. 2023. Т. 18. № 3. С. 233–257. DOI: 10.21638/10.21638/spbu11.2023.302
73. Сильверстейн Р., Вебстер Ф., Кимл Д. Спектрометрическая идентификация органических соединений. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2012. 557 с.
74. Нечипоренко А.П., Орехова С.М., Нечипоренко У.Ю., Плотникова Л.В. Биофизика. Оптические свойства биологических тканей животного и растительного происхождения. СПб.: Лань, 2022. 404 с.
75. Abramovich A., Shulzinger A. Diagnostic and analysis of human sperm characteristics using Fourier transform infrared spectroscopy. *Open Journal of Urology.* 2015, V. 5, Is. 6, pp. 97–101. DOI: 10.4236/oju.2015.56015
76. Oldenhof H., Schütze S., Wolkers W.F., Sieme H. Fourier transform infrared spectroscopic analysis of sperm chromatin structure and DNA stability. *Andrology.* 2016, V. 4, Is. 3, pp. 430–441. DOI: 10.1111/andr.12166.
77. Нечипоренко А.П., Везо О.С., Нечипоренко У.Ю., Плотникова Л.В., Ситникова В.Е., Украинцева П.И., Плотников П.П. Оптические свойства мёдов: методы ИК-Фурье спектроскопии и рефрактометрии // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2021. Т. 11. N 4. С. 627–641. DOI: 10.21285/2227-2925-2021-11-4-627-641
78. Нечипоренко А.П., Плотникова Л.В., Везо О.С., Ситникова В.Е. Метод Фурье ИК-спектроскопии в исследовании аномальной чистоты α - и β -форм кристаллической D(+)-глюкопиранозы // Научный журнал НИУ ИТМО. Серия «Процессы и аппараты пищевых производств». 2024. № 1. С. 25–43. DOI: 10.17586/2310-1164-2024-17-1-25-34
79. Нечипоренко А.П., Ситникова В.Е., Украинцева П.И., Нечипоренко У.Ю. Оптические и трансдермальные свойства липидного барьера рогового слоя эпидермиса кожи // Научный журнал НИУ ИТМО. Серия «Процессы и аппараты пищевых производств». 2023. № 4. С. 14–28. DOI: 10.17586/2310-1164-2023-16-4-14-28
80. Khavinson V.Kh. Tissue-Specific effects of peptides. *Bull Exp Biol Med.* 2001, V. 132, no. 8, pp. 807–808. DOI: 10.1023/a: 1013058701974.
81. Bosler J.S., Davies K.P., Neal-Perry G.S. Peptides in seminal fluid and their role in infertility: a potential role for opiorphin inhibition of neutral endopeptidase activity as a clinically relevant modulator of sperm motility: A review. *Reprod. Sci.* 2014, V. 21, Is. 11, pp. 1334–1340. DOI: 10.1177/1933719114536473
82. Потапова М.К., Боровец С.Ю., Аль-Шукри С.Х. Наш опыт комбинированного лечения идиопатического мужского бесплодия с применением низкоинтенсивной лазерной терапии и комплексных пептидов предстательной железы // Вестник Урологии. 2023. Т. 11. № 2. С. 99–109. DOI: 10.21886/2308-6424-2023-11-2-99-109
83. Хавинсон В.Х., Рыжак Г.А. Клинико-экспериментальное изучение пептидного биорегулятора Тестагена [Электронный ресурс] // Регистр лекарственных средств России. 2021. URL: <https://www.rlsnet.ru/library/articles/urologiya/kliniko-eksperimentalnoe-izucenie-peptidnogo-bioregulyatora-testagena-96>. (Дата обращения 17.07.2024)

References

1. Bykov V.L. Spermatogenesis in men at the end of the XX century (literature review). *Problemy Reproduktsii.* 2000, no. 1, pp. 10–21. (In Russian)
2. Wu F.C., Bancroft J.H. Male infertility. *Brit. Med. J. (Clin Res Ed.)*, 1985, V. 290, Is. 6479, pp. 1417–1420. DOI: 10.1136/bmj.290.6479.1417
3. Gasparov A.S., Nazarenko T.A. *Reproductive health. Infertility as a medical and social problem.* Moscow, NC AGiP RAMS Publ., 2000. 56 p. (In Russian)
4. Gilmuyden N.K. The male factor. Why is the quality of sperm decreasing and how to stop this process? Moscow, Eksmo Publ., 2021. 352 p. (In Russian)
5. Bozhedomov V.A., Teodorovich O.V. Epidemiology and causes of autoimmune male infertility. *Urologiia.* 2005, no. 1, pp. 35–44. (In Russian)

6. Auger J., Eustache F., Chevrier C., Jégou B. Spatiotemporal trends in human semen quality. *Nat. Rev. Urol.* 2022, V. 19, Is. 10, pp. 597–626. DOI: 10.1038/s41585-022-00626-w
7. Aliyev R.T., Aliyev R.R., Pikalov S.M. Features of ejaculate indicators and methods of spermatogenesis disorders correction in men of different age groups. *Effective Pharmacotherapy.* 2019, V. 15, no. 16, pp. 26-33. DOI: 10.33978/2307-3586-2019-15-16-26-33. (In Russian)
8. Kumar N., Singh A. Trends of male factor infertility, an important cause of infertility: A review of literature. *J. Hum. Reprod. Sci.* 2015, V. 8, Is. 4, pp. 191–196. DOI: 10.4103/0974-1208.170370
9. Agarwal A., Mulgund A., Hamada A., Chyatte M. A unique view on male infertility around the globe. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2015, V. 13, article 37. DOI: 10.1186/s12958-015-0032-1
10. Le Moal J., Rolland M., Gorla S. et al. Semen quality trends in French regions are consistent with a global change in environmental exposure. *Reproduction.* 2014, V. 147, Is. 4, pp. 567–574. DOI: 10.1530/REP-13-0499
11. López-Teijón M., Elbaile M., Alvarez J.G. Geographical differences in semen quality in a population of young healthy volunteers from the different regions of Spain. *Andrologia*, 2008, V. 40, Is. 5, pp. 318–328. DOI: 10.1111/j.1439-0272.2008.00862.x
12. Eisenberg M., Li Sh., Behr B. Semen quality, infertility and mortality in the USA. *Hum. Reprod.*, 2014, V. 29, pp. 1567–1574. DOI: 10.1093/humrep/deu106
13. Iwamoto T., Nozawa S., Yoshiike M. Semen quality of Asian men. Review. *Reprod Med Biol.* 2007, V. 6, Is. 4, pp. 187–193. DOI: 10.1111/j.1447-0578.2007.00184.x
14. Gao J., Gao E., Yang Q., Walker M., Wu J.Q., Zhou W.J., Wen S.W. Semen quality in a residential, geographic and age representative sample of healthy Chinese men. *Hum. Reprod.* 2007, V. 22, pp. 477–484. DOI: 10.1093/humrep/del383
15. Zairatians O.V., Kovalsky G.B., Rybakova M.G. Medical and demographic indicators. Russia – the XX century and the beginning of the XXI century. *Chief Medical Officer.* 2008, no. 3, pp. 57-59. (In Russian)
16. Lebedev G.S., Golubev H.A., Shaderkin I.A., Shaderkina V.A. et al. Male infertility in the Russian Federation: statistical data for 2000–2018. *Eksperimental'naya i Klinicheskaya Urologiya.* 2019, V. 4, pp. 4–13. DOI: 10.29188/2222-8543-2019-11-4-4-12. (In Russian)
17. Osadchuk L., Shantanova L., Troev I., Kleshchev M., Osadchuk A. Regional and ethnic differences in semen quality and reproductive hormones in Russia: A Siberian population-based cohort study of young men. *Andrology.* 2021, V. 9, Is. 5, pp. 1512–1525. DOI: 10.1111/andr.13024
18. Shcheplev P.A., Apolikhin O.I. Muzhskoe besplodie. Obsuzhdenie konsensusa. *Bulletin of Reproductive Health.* 2010, no. 3-4, pp. 37–44. DOI: 10.14341/brh20103-437-44. (In Russian)
19. Sukhoi G.T., Bozhedomov V.A. Male infertility. A practical guide for urologists and gynecologists. Moscow, Eksmo Publ. 2009, 240 p. (In Russian)
20. Mursky S.I. The role of biochemical parameters of sperm plasma in the laboratory diagnosis of male reproductive function. *Candidate's thesis.* St. Petersburg. 2020. 194 p. (In Russian)
21. Pavlov V.N., Galimova E.F., Teregulov B.F., Kaybishev V.T., Galimov Sh.N. Molecular and metabolic aspects of male infertility. *Urology Herald.* 2016, no. 2, pp. 40–59. DOI: 10.21886/2308-6424-2016-0-2-40-59. (In Russian)
22. Louis G.M. Male fecundity and its implications for health and disease across the lifespan. *Hum. Reprod.*, 2014, V. 29, Is. 7, pp. 1351–1352. DOI: 10.1093/humrep/deu108
23. Houston B.J., Riera-Escamilla A., Wyrwoll M.J., Salas-Huetos A., Xavier M.J. et al. A systematic review of the validated monogenic causes of human male infertility: 2020 update and a discussion of emerging gene-disease relationships. *Hum. Reprod. Update.* 2021, V. 28, Is. 1, pp. 5–29. DOI: 10.1093/humupd/dmabo30
24. Sukhoi G.T., Nazarenko T.A. *Infertile marriage.* Manual. Moscow, GEOTAR-Media Publ., 2010. 784 p. (In Russian)
25. Kasimova T.V., Bogdanov Yu.A., Kusnetsov I.D., Karpunina T.I. Microflora of ejaculate as a potential cause of reproductive system problems. *Fundamental Research.* 2012, no. 2-2, pp. 308–310. (In Russian)
26. Yakovlev I.B., Apryatina V.A., Petlenko S.V. Drug-induced male infertility. *Russian Journal of Human Reproduction.* 2022, V. 28, no. 3, pp. 110–119. DOI: 10.1017/116/repro202228031110. (In Russian)
27. Barsukov A.A., Shcherbakov D.V., Lytkina S.V., Churin A.S. Influence of nutritional factors on the ejaculate in young men. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya.* 2018, no. 6. (In Russian)
28. Sobreiro B.P., Lucon A.M., Pasqualotto F.F., Hallak J., Athayde K.S., Arap S. Semen analysis in fertile patients undergoing vasectomy: reference values and variations according to age, length of sexual abstinence, seasonality, smoking habits and caffeine intake. *Sao Paulo Med. J.* 2005, V. 123, Is. 4, pp. 161–166. DOI: 10.1590/s1516-31802005000400002
29. Sharma R., Harlev A., Agarwal A., Esteves S.C. Cigarette smoking and semen quality: A new meta-analysis examining the effect of the 2010 world health organization laboratory methods for the examination of human semen. *Eur. Urol.* 2016, V. 70, Is. 4, pp. 635–645. DOI: 10.1016/j.eururo.2016.04.010
30. Ricci E., Al Beitawi S., Cipriani S., Candiani M., Chiaffarino F., Viganò P., Noli S., Parazzini F. Semen quality and alcohol intake: a systematic review and meta-analysis. *Reprod. Biomed. Online.* 2017, V. 34, Is. 1, pp. 38–47. DOI: 10.1016/j.rbmo.2016.09.012

31. Chua S.C., Yovich S.J., Hinchliffe P.M., Yovich J.L. Male clinical parameters (age, stature, weight, body mass index, smoking history, alcohol consumption) bear minimal relationship to the level of sperm DNA fragmentation. *J. Pers. Med.* 2023, V. 13, Is. 5, article 759. DOI: 10.3390/jpm13050759
32. Lutskii D.L., Vybornov S.V., Lutskaiya A.M., Goncharova L.A., Makhmudov R.M. Influence of chemical agents on male reproductive system (a review): Part I: Metals. Part II: Organic Solvents and Pesticides. Part III: Toxic Agents in Sperm. *Russian Journal of Human Reproduction*. 2009, no. 6, pp. 48–64.
33. Galimova E.F. Molecular and cellular mechanisms of functioning of the male reproductive system under conditions of extreme and background influences of various nature and intensity. *Abstract of the Doctor's thesis*. 2016, 48 p. (In Russian)
34. Galimov Sh.N., Gizatullin T.R., Farkhutdinov, Galimova E.F., Sivochalova O.V. Molecular markers of ejaculate fertility in employees of special forces of the Ministry of Internal Affairs under combat stress. *Russian Journal of Occupational Health and Industrial Ecology*. 2009, no. 10, pp. 36–39. (In Russian)
35. Galimov Sh.N., Kamilov F.H., Agletdinov E.F., Gromenko D.S., et al. Androgen deficiency syndrome as a marker of anthropogenic pollution of the environment. *Russian Journal of Human Reproduction*. 2002, V. 8, no. 1, pp. 46–50. (In Russian)
36. Sagalov A.V. Outpatient andrology. Moscow, Geotar-Media Publ. 2017, 528 p. (In Russian)
37. Björndahl L., Mortimer D., Barratt C.L.R., Castilla J.A., et al. *A practical guide to basic laboratory andrology*. Cambridge University Press. 2010. 357 p. DOI: <https://doi.org/10.1017/CBO9780511729942>
38. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. World Health Organization, 2010. 271 p.
39. Olefir Yu.V., D.M. Monakov D.M. Clinical significance of sperm morphology in male infertility treatment. *Ekspieriment'naya i Klinicheskaya Urologiya*. 2021, V. 14, no.3, pp. 127–132. DOI: 10.29188/2222-8543-2021-14-3-127-132. (In Russian)
40. Lefievre L., Bedu-Addo K., Conner S. et al. Counting sperm does not add up anymore: time for a new equation? *Reproduction*. 2007, V. 133, Is. 4, pp. 675–684. DOI: 10.1530/REP-06-0332
41. Björndahl L., Haugen T.B. Hva forteller en saedanalyse? [The information contained in a semen analysis]. *Tidsskr Nor Laegeforen*. 2008, V. 128, Is. 3, pp. 320–323.
42. Lewis S.E. Is sperm evaluation useful in predicting human fertility? *Reproduction*. 2007, V. 134, Is. 1, pp. 31–40. DOI: 10.1530/REP-07-0152
43. Khayrutdinov K.N., Sitdykova M.E., Zubkov A.Yu. Male infertility is the problem of the XXI century. *Practical Medicine*. 2018, V. 16, no. 6, pp. 185–189. DOI: 10.32000/2072-1757-2018-16-6-185-189. (In Russian)
44. Danilov V.V., Lechuk S.A. Quantitative evaluation of sperm in men, based on an interval scale. *Andrology and Genital Surgery*. 2013, no. 1, pp. 44–48. (In Russian)
45. Olefir Yu.V., Vinogradov I.V., Rodionov M.A., Zhivulko A.R., Popov D.M., Monakov D.M. The Sixth Edition of the WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen: is everything new a well-forgotten old? *Urology Herald*. 2023, V. 11, no. 1, pp. 171–176. DOI: 10.21886/2308-6431-2023-11-1-171-176. (In Russian)
46. Agarwal A., Baskaran S., Parekh N., Cho C.L., Henkel R., Vij S., Arafa M. et al. Male infertility. *Lancet*. 2021, V. 397, Is. 10271, pp. 319–333. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)32667-2.
47. Wang Ch., Mbizvo M., Mario P Festin M.P., Björndahl L., Toskin I. Evolution of the WHO "Semen" processing manual from the first (1980) to the sixth edition (2021). *Fertil Steril*. 2022, V. 117, Is. 2, pp. 237–245. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2021.11.037
48. Galimov Sh.N., Gromenko Yu.Y., Galimov K.Sh., E.F. Galimova E.F., Bodrova E.S., Bulygin K.V., Litvitsky P.F. Molecular mechanisms of male infertility: main directions of scientific research. *Urologiya*. 2022, no. 4, pp. 114–117. DOI: 10.18565/urology.2022.4.114-117. (In Russian)
49. Gusyakova O.A., Mursky S.I., Tukmanov G.V., Komarova M.V. Features of the metabolic composition of spermal plasma in different morphofunctional pathologies of the ejaculate. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2019, V. 64, no. 8, pp. 469–476. DOI: 10.18821/0869-2084-2019-64-8-459-476. (In Russian)
50. Kant K., Tomar A.K., Sharma P., Kundu B., Singh S., Yadav S. Human epididymis protein 4 quantification and interaction network analysis in seminal plasma. *Protein Pept Lett.*, 2019, V. 26, Is. 6, pp. 458–465. DOI: 10.2174/0929866526666190327124919.
51. Barazani Y., Agarwal A., Sabanegh E. Functional sperm testing and the role of proteomics in the evaluation of male infertility. *Urology*. 2014, V. 84, Is. 2, pp. 255–261. DOI: 10.1016/j.urology.2014.04.043
52. Lutsky D.L., Nikolaev A.A., Lozhkina L.V. Protein spectrum of ejaculates of various fertility. *Urologiya i nefrologiya*. 1998, no. 2, pp. 48–52. (In Russian)
53. Khasanova E.M., Gankovskaya L.V., Grechenko V.V., Svitich O.A. Relevance of the β -defensin family in reduction of male reproductive function. *Immunologiya*. 2021, V. 42, no. 5, pp. 470–479. DOI: 10.33029/0206-4952-2021-42-5-470-479. (In Russian)
54. Chen S., Wang M., Li L., Wang J., Ma X., Zhang H. et al. High-coverage targeted lipidomics revealed dramatic lipid compositional changes in asthenozoospermic spermatozoa and inverse correlation of ganglioside GM3 with sperm motility. *Reprod Biol Endocrinol*. 2021, V. 19, Is. 1 article 105. DOI: 10.1186/s12958-021-00792-3

55. Khyshiktuev B.S., Koshmelev A.A. Features of changes in the phospholipid composition of seminal fluid in men with impaired fertility. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2010, no. 7, pp. 27–30. (In Russian)
56. Antonov M.P., Zhigulina V.V. Lipids of sperm and spermoplasma in ejaculate of infertile men. *Russian Journal of Human Reproduction*. 2012, no. 4, pp. 71–75. (In Russian)
57. Koshmelev A.A. The pathogenetic role of changes in the phospholipid and peroxide status of ejaculate in male fertility disorders. *Abstract candidate's thesis*. Chita, 2012. 23 p. (In Russian)
58. Williams A.C., Ford W.C. The role of glucose in supporting motility and capacitation in human spermatozoa. *J Androl.*, 2001, V. 22, Is. 4, pp. 680–695.
59. Ishtulin A.F. The relationship of biochemical parameters of spermoplasm with sperm motility in patients with infertility. *Candidate's thesis*. Ryazan. 2023. 124 p. (In Russian)
60. Tsujii H., Ohta E., Miah A.G., Hossain S., Salma U. Effect of fructose on motility, acrosome reaction and *in vitro* fertilization capability of boar spermatozoa. *Reprod Med Biol*. 2006, V. 5, Is. 4, pp. 255–261. DOI: 10.1111/j.1447-0578.2006.00150.x
61. Clark G.F. The role of carbohydrate recognition during human sperm-egg binding. *Hum Reprod*. 2013, V. 28, Is. 3, pp. 566–577. DOI: 10.1093/humrep/des447
62. Tyuzikov I.A., Kalinchenko S.Yu., Vorslov L.O., Tishova Yu.A. Male infertility and insulin resistance: are there any pathogenic links, and who, when and how must diagnose and treat them? *Eksperimental'naya i Klinicheskaya Urologiya*. 2014, no. 2, pp. 68–75. (In Russian)
63. Zhang Z., Zhang J., Huang Sh., He X., Deng L. Double sperm cloning (DSC) is a promising strategy in mammalian genetic engineering and stem cell research. *Stem Cell Research and Therapy*. 2020, V. 11, Is. 1, article 388. DOI: 10.1186/s13287-020-01907-0
64. Lombo M., Ruiz-Díaz S., Gutiérrez-Adán A., Sánchez-Calabuig M. Sperm metabolomics through nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Animals* (Basel). 2021, V. 11, Is. 6, article 1669. DOI: 10.3390/ani11061669
65. Mallidis C., Sanchez V., Wistuba J., Wuebbeling F., Burger M., Fallnich C., Schlatt S. Raman microspectroscopy: shining a new light on reproductive medicine. *Human Reproduction Update*. 2014, V. 20, Is. 3, pp. 403–414. DOI: 10.1093/humupd/dmt055
66. Huang Z., Chen X., Chen Y., Chen J., Dou M., Feng S., Zeng H., Chen R. Raman spectroscopic characterization and differentiation of seminal plasma. *J. Biomed Opt.* 2011, V. 16, Is. 11, article 110501. DOI: 10.1117/1.3650310
67. Barcot O., Balarin M., Gamulin O., Jezek D., Romac P., Brnjas-Kraljević J. Investigation of spermatozoa and seminal plasma by Fourier transform infrared spectroscopy. *Appl. Spectrosc.*, 2007, V. 61, Is. 3, pp. 309–313. DOI: 10.1366/000370207780220804.
68. Pachetti M., Zupin L., Venturin I., Mitri E., Boscolo R., D'Amico F. et al. FTIR spectroscopy to reveal lipid and protein changes induced on sperm by capacitation: Bases for an improvement of sample selection in ART. *Int J Mol Sci*. 2020, V. 21, Is. 22, article 8659. DOI: 10.3390/ijms21228659.
69. Zha S., Wei X., Fang R., Wang Q., Lin H., Zhang K., Zhang H., Liu R. et al. Estimation of the age of human semen stains by attenuated total reflection Fourier transform infrared spectroscopy: A preliminary study. *Forensic Sci. Res.* 2019, V. 5, Is. 2, pp. 119–125. DOI: 10.1080/20961790.2019.1642567
70. Das T., Ammal A., Harshey A., Mishra V., Srivastava A. Vibrational spectroscopic approaches for semen analysis in forensic investigation: State of the art and way forward. *Microchemical Journal*. 2021, V. 171, article 106810. DOI: 10.1016/j.microc.2021.106810
71. Wei X., Yu K., Wu D., Huang P., Sun Q., Wang Z. Species identification of semen stains by ATR-FTIR spectroscopy. *Int J Legal Med*. 2021, V. 135, Is. 1, pp. 73–80. DOI: 10.1007/s00414-020-02367-0
72. Nechiporenko A.P., Sitnikova V.E., Nechiporenko U.Yu., Konovalenko A.V. Fourier Infrared spectroscopy in the study of manifestations of sperm pathology. *Vestnik of Saint Petersburg University. Medicine*. 2023, V. 18, no. 3, pp. 233–257. DOI: 10.21638/10.21638/spbu11.2023.302. (In Russian)
73. Silverstein R., Webster F., Kiml D. *Spectrometric identification of organic compounds*. Moscow, BINOM. Laboratory of Knowledge Publ., 2012. 557 p. (In Russian)
74. Nechiporenko A.P., Orekhova S.M., Nechiporenko U.Yu., Plotnikova L.V. Biophysics. Optical properties of biological tissues of animal and plant origin. St. Petersburg, Lan' Publ., 2022. 404 p.
75. Abramovich A., Shulzinger A. Diagnostic and analysis of human sperm characteristics using Fourier transform infrared spectroscopy. *Open Journal of Urology*. 2015, V. 5, Is. 6, pp. 97–101. DOI: 10.4236/oju.2015.56015
76. Oldenhof H., Schütze S., Wolkers W.F., Sieme H. Fourier transform infrared spectroscopic analysis of sperm chromatin structure and DNA stability. *Andrology*. 2016, V. 4, Is. 3, pp. 430–441. DOI: 10.1111/andr.12166
77. Nechiporenko A.P., Vezo O.S., Nechiporenko U.Yu., Plotnikova L.V., Sitnikova V.E., Ukraintseva P.I., Plotnikov P.P. Optical properties of honey: FTIR spectroscopy and refractometry. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya*. 2021, V. 11, no. 4, pp. 627–641. DOI: 10.21285/2227-2925-2021-11-4-627-641. (In Russian)
78. Nechiporenko A.P., Plotnikova L.V., Vezo O.S., Sitnikova V.E. Fourier method of IR spectroscopy in the study of the anomeric purity of α - and β -forms of crystalline D(+)-glucopyranose. *Processes and Food Production Equipment*. 2024, no. 1, pp. 25–43. DOI: 10.17586/2310-1164-2024-17-1-25-34. (In Russian)

79. Nechiporenko A.P., Sitnikova V.E., Ukrainseva P.I., Nechiporenko U.Y. Optical and transdermal properties of the barrier layer of skin epidermis. *Processes and Food Production Equipment*. 2023, V. 16, no. 4, pp. 14–28. DOI: 10.17586/2310-1164-2023-16-4-14-28. (In Russian)
80. Khavinson V.Kh. Tissue-Specific effects of peptides. *Bull Exp Biol Med*. 2001, V. 132, no. 8, pp. 807–808. DOI: 10.1023/a: 1013058701974.
81. Bosler J.S., Davies K.P., Neal-Perry G.S. Peptides in seminal fluid and their role in infertility: a potential role for opiorphin inhibition of neutral endopeptidase activity as a clinically relevant modulator of sperm motility: A review. *Reprod. Sci.* 2014, V. 21, Is. 11, pp. 1334–1340. DOI: 10.1177/1933719114536473
82. Potapova M.K., Borovets S.Yu., Al-Shukri S.H. Combined treatment of idiopathic male infertility using low-intensity laser therapy and complex prostate peptides: single-centre experience. *Urology Herald*. 2023, V. 11, no. 2, pp. 99–109. DOI: 10.21886/2308-6424-2023-11-2-99-109. (In Russian)
83. Khavinson V.Kh., Ryzhak G.A. Clinical and experimental study of the peptide bioregulator Testagen. *Registr lekarstvennykh sredstv Rossii*. 2021. URL: <https://www.rlsnet.ru/library/articles/urologiya/kliniko-eksperimentalnoe-izucenie-peptidnogo-bioregulyatora-testagena-96>. (Accessed 17.07.2024). (In Russian)

Информация об авторах

Алла Павловна Нечипоренко – д-р хим. наук, профессор
Вера Евгеньевна Ситникова – канд. хим. наук, доцент
Андрей Валентинович Коноваленко – врач-судмедэксперт
Ульяна Юрьевна Нечипоренко – биохимик

Information about the authors

Alla P. Nechiporenko, Dr. Sci. (Chem.), Professor
Vera E. Sitnikova, Ph. D. (Chem.), Associate Professor
Andrey V. Konovalenko, medical examiner
Ulyana Yu. Nechiporenko, Biochemist

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflicts of interests

Статья поступила в редакцию 10.08.2024

Одобрена после рецензирования 19.09.2024

Принята к публикации 20.09.2024

The article was submitted 10.08.2024

Approved after reviewing 19.09.2024

Accepted for publication 20.09.2024