

Научная статья

УДК 57.616.69/543.424

DOI: 10.17586/2310-1164-2025-18-2-69-90

Метод Фурье ИК-спектроскопии в исследовании паренхимы яичек и эякулята в норме и с разной степенью патологии

А.П. Нечипоренко^{1*}, В.Е. Ситникова¹, А.В. Коноваленко²¹Университет ИТМО, Россия, Санкт-Петербург, *allanech2512@yandex.ru²Бюро судебно-медицинской экспертизы, Россия, Санкт-Петербург

Аннотация. Методом Фурье ИК-спектроскопии проведено сравнительное исследование девяти образцов паренхимы яичек мужчин разных возрастных категорий и эякулята в норме и разной степени патологии. Показана возможность диагностирования выраженной патологии ткани яичек по наличию в спектре эякулята полос в области 1575–1578 см⁻¹, обусловленных поглощением пептидных образований, как следствие частичного разрушения белковых структур. Спектральная визуализация изменений оптических свойств паренхимы с ухудшением ее качества позволила наблюдать аналогию с изменением оптических свойств эякулята при появлении признаков начинающейся патологии и с ее развитием. Первичными признаками проявления зарождающейся патологии в ткани яичка являются нарушения в ее углеводной системе (1175–750 см⁻¹), влекущие последовательные изменения в липидных и, как следствие, в белковых структурах. Исследование образцов паренхимы в расширенном возрастном диапазоне (47–90 лет) позволило отметить, что возрастные изменения в углеводной системе паренхимы имеют совсем иной характер и, в случае ее здоровья, могут протекать без заметных структурных изменений в липидной и белковой системах. Полученные данные подтверждают возможности метода Фурье ИК-спектроскопии как дополнительного диагностического инструмента в клинической практике урологии и андрологии.

Ключевые слова: биоматериалы; сперматогенез; паренхима яичек; эякулят; Фурье ИК-спектроскопия

Original article

The Fourier method of IR spectroscopy in the study of parenchyma of the normal testicles and ejaculate and the ones with varying degrees of pathology

Alla P. Nechiporenko¹, V.E. Sitnikova¹, A.V. Konovalenko²¹ITMO University, St. Petersburg, Russia, allanech2512@yandex.ru²Bureau of Forensic Medical Examination, St. Petersburg, Russia

Abstract. A comparative study of 9 samples of testicular parenchyma of men of different age categories and of normal ejaculate as well as the one with varying degrees of pathology was performed using Fourier IR spectroscopy. It is shown that it is possible to diagnose pronounced testicular tissue pathology by the presence of bands in the ejaculate spectrum in the range of 1575–1578 cm⁻¹ caused by the absorption of peptide formations as a result of partial destruction of protein structures. Spectral visualization of changes in the optical properties of the parenchyma while its quality is deteriorated allowed us to observe an analogy with changes in the optical properties of the ejaculate when the signs of incipient pathology appear and when it is developed. Primary manifestation of incipient pathology in testicular tissue are disorders in its carbohydrate system (1175–750 cm⁻¹), entailing sequential changes in lipid and, as a result, in protein structures. The study of parenchymal samples for the extended age range (47–90 years) allowed us to note that age-related changes in the carbohydrate system of the parenchyma have a completely different character and, if the system is healthy, can occur without noticeable structural changes in the lipid and protein systems. The data obtained confirm the possibilities of the Fourier method of IR spectroscopy as an additional diagnostic tool in the clinical practice of urology and andrology.

Keywords: biomaterials; spermatogenesis; testicular parenchyma; ejaculate; Fourier infrared spectroscopy

Введение

За последние 50–60 лет, согласно данным ВОЗ, во всех популяциях планеты наблюдается стремительный рост числа бесплодных браков и возрастающая роль в этой проблеме мужского фактора [1–4]. Тревожные симптомы стимулировали активность в исследовании комплекса причин ухудшения здоровья репродуктивной системы сильной половины человечества. В результате многочисленные публикации, появившиеся в последние годы [5–9], все чаще и настойчивей ставят под сомнение достаточность для XXI века надежности рутинных методов анализа, разработанных в 60–70-х годах прошлого столетия [10], и субъективность метода микроскопии, являющихся базовыми

для показателей спермограммы, которая, несмотря на отдельные недостатки, остается ведущим методом оценки мужской фертильности. Все решительней заостряется вопрос о доступности и расширении арсенала современных объективных инструментальных экспресс-методов анализа не только в практике научно-исследовательских лабораторий, но и в повседневной работе клинических лабораторий.

Сегодня спектр физических методов исследования эякулята, плазмы и сперматозоидов значительно расширился [11–15]. Среди оптических методов наибольшее признание получил неразрушающий экспресс-метод Фурье ИК-спектроскопии, обладающий высокой чувствительностью и точностью [16–19]. Одним из его важных преимуществ является возможность анализировать образцы биологических тканей (твердых и жидких) в нативном виде, без специальной пробоподготовки к измерениям. Исключительная особенность метода – возможность с большой точностью идентифицировать вещественный состав тканей (белки, липиды, углеводы) и обнаруживать структурные изменения в их макромолекулах.

Однако, несмотря на интенсивную разработку проблемы репродуктивного здоровья мужчин, о чем говорят десятки тысяч научных статей за последние десятилетия по диагностике и лечению мужского бесплодия на генетическом, молекулярном и клеточном уровнях [20], конкретные причины и механизмы его неуклонного снижения исследованы недостаточно – от 20 до 75% случаев диагностированного мужского бесплодия считаются идиопатическими.

В последние годы все больший вес приобретает концепция о необходимости расширения исследований по установлению взаимосвязи между качеством сперматозоидов на клеточном и субклеточном уровне и химическими изменениями в их вещественном составе в результате нарушений метаболизма в процессе сперматогенеза [21–25]. Актуальность вопроса состоит в том, что в спектре метаболитов, присутствующих в клетке, предоставлена информация обо всей совокупности процессов, происходящих после экспрессии генов и посттрансляционной модификации белков, инициируемых как внутренними, так и внешними факторами. Это делает метаболомику высоко эффективным средством диагностики заболеваний и мониторинга результатов лечения. Кроме того, комплекс информации о структурных изменениях белка не только улучшит понимание многих процессов, которые подготавливают сперматозоиды к приобретению способности к оплодотворению, но и поможет в расшифровке новых факторов мужского бесплодия [20, 26]. И, несмотря на сложность метаболомных исследований из-за многообразия метаболитов, относящихся к разным классам химических веществ и имеющих различные физико-химические свойства, в последнее время экспоненциально возросло количество публикаций по профилированным метаболомическим исследованиям.

Протеомика – определение и характеристика полного набора белков в объекте исследования, представляющих динамичную систему, изменяющуюся в процессе развития организма, а также при различных физиологических и патологических состояниях. Синтезированные на рибосомах белки подвергаются многообразным модификациям – присоединение углеводов, липидов, пептидов, различных функциональных групп, образование дисульфидных мостиков и др. И для понимания механизмов функционирования клетки задача анализа белков остается приоритетной.

Изучению роли качества белка в оценке мужского бесплодия при различных видах патологии посвящен обширный круг работ [27–34]. Однако, как показано в работах [35–37], дифференцированное исследование протеомных изменений в сперматозоидах *in vitro* позволяет классифицировать, например, нормоспермию и астенозооспермию по различию между белками, реагирующими с акросомой и белками высвобождающимися во время акросомной реакции, по процессам сворачивания белков, окислительного фосфолирования, гликолитических процессов и гликолиза, подавления хроматина.

В липидомике, относительно новой дисциплине, появившейся в 2003 году, интерес вызывают жирные кислоты [38–42], нарушение метаболизма которых согласно филогенетической теории общей патологии [43] является основой патогенеза, поскольку как вещества жирные кислоты задействованы в формировании функционально специфических структур клеток, участвуют в синтезе биологически активных медиаторов, регулирующих биологические функции и биологические реакции, являются субстратами для митохондриального окисления и выработки макроэргического АТФ. Липидомика изучает весь липидный пул в клетке, позволяя провести количественный анализ липидного профиля в образце [44].

Двойной липидный слой плазматических мембран, как известно, состоит примерно на 70% из фосфолипидов, 25% в нем представляют нейтральные липиды и 5% гликолипиды. В работах [45, 46] отмечено, что в составе сперматозоидов преобладают полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) – 36–52% от общего количества жирных кислот, преимущественно олеиновая, линолевая, линоленовая, имеющие соответственно одну, две, три двойные (ненасыщенные) связи, и докозагексаеновая (ДГК) – шесть двойных связей, более высокий уровень которой характерен для нормальных сперматозоидов. ПНЖК способствуют текучести и эластичности мембран, а в основе снижения их содержания лежат изменения в их структуре, что приводит к повышению жесткости мембран, снижению гибкости и подвижности сперматозоидов и их нетипичной морфологии. Высокое процентное содержание длинноцепочечных ПНЖК коррелирует с нормальной морфологией сперматозоидов [45]. В работе [47] сообщалось, что в образцах сперматозоидов с олигозооспермией и астенозооспермией наблюдалось более высокое содержание насыщенных жирных кислот, аномально высокое мононенасыщенных и снижение ПНЖК в сравнении с образцами нормозооспермии. Авторы [48, 49] на образцах сперматозоидов тех же категорий наблюдали низкое содержание ДГК и более высокое количество других ПНЖК в образцах с астенозооспермией в сравнении с образцами от здоровых людей.

В работе [50] показано использование метода Фурье ИК-спектроскопии для исследования влияния нарушений в метаболизме липидов на содержание α - и β -спиралей в структуре белка сперматозоидов. Отмечается, что высокий процент β -структур, являющийся признаком патологического состояния, хорошо коррелирует с низким морфологическим качеством сперматозоидов, а липидный состав, определяющий жесткость клеточных мембран, – с их подвижностью и жизнеспособностью. С этой точки зрения увеличение β -структур может быть связано с более высоким процентом некачественных сперматозоидов, с низкой подвижностью и нежизнеспособными клетками.

Однако в публикациях отсутствуют ИК-спектральные данные о влиянии нарушений в метаболизме углеводов на качество белково-липидных структур сперматозоидов и очень ограничены данные в изучении структурно-функциональных изменений углеводов в составе гликокаликса с появлением признаков патологии в зависимости от тех или иных внутренних и внешних факторов. Гликокаликс клетки, покрывающий внешнюю поверхность ее мембраны, представляет собой плотный углеводный слой толщиной 20–60 нм («сахарная оболочка») [51, 52] с комплексом многочисленных функций, в том числе и защитных, имеет сложный состав – многообразные гликопротеины, протеогликаны, гликолипиды, олиго- и моносахариды.

Их распределение, связанное с изменением состава гликокаликса и его несовершенством, на поверхности нормальных сперматозоидов и клеток с патологией очень заметно различается. Гликокаликс играет важную роль на протяжении всего жизненного цикла сперматозоидов [53] – в их образовании, созревании, конденсации, влияя на подвижность, морфологию, способность к оплодотворению, и незначительные изменения в его составе сказываются на фертильности спермы [54, 55].

Благодаря появлению и невероятно стремительному развитию нового в современной биологии направления – гликобиологии [56, 57], предметом исследований которого являются углевод-зависимые процессы, происходящие в клетке, за последние два–три десятилетия с использованием методов высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и масс-спектроскопии показана масштабная роль очень пластичного и варибельного процесса ферментативного гликолизирования белков и липидов в биологических тканях.

В работах [58–60] обобщены данные о роли посттрансляционного ферментативного гликолизирования белков как модификации, играющей ключевую роль на всех стадиях сперматогенеза: созревание, капацитация, контроль внеклеточного качества, оплодотворение. А также данные о связи неферментативного (аберрантного) гликолизирования (гликирования) белков с нарушениями мужской репродуктивной функции и бесплодием.

Гликозилирование – базовая биохимическая реакция, в результате которой углеводные фрагменты (гликаны) ковалентно соединяются с белками и липидами, образуя гликопротеины, протеогликаны и гликолипиды [61, 62]. Их молекулы в составе клеточных мембран выполняют структурную и барьерную функцию, образуют рецепторы, участвуют в синтезе гормонов и ферментов, транспортируют вещества в клетку и обратно. В основе врожденных и приобретенных на данном этапе

патологий лежат нарушения в креплении гликанов (N- и O-гликозилирование) к боковой амидной цепи остатков аминокислот (гликопротеомика), а также изменения на этапе якорного крепления углеводов к липидам (гликолипидомика) [63–66]. Исключительную важность данной модификации подчеркивает то обстоятельство, что большинство белков клетки биологических тканей (от вируса до человека) являются гликолизированными. Значимость посттрансляционного гликолизирования для нормального функционирования организма подтверждается и тем, что существует ряд заболеваний, в основе которых лежат нарушения системы посттрансляционной модификации белков и липидов (муколипидоз, болезнь Альцгеймера, различные виды рака) [67–70].

Происходит гликолизирование белка при участии огромного количества разнообразных узко специализированных ферментов гликозилтрансфераз, катализирующих крепление, стрижку и наращивание олигосахаридных цепей на молекуле белка уже после его синтеза по программе, закодированной в геноме. Разнообразие по моносакхаридному составу, строению, степени ветвления олигосахаридов, характеру их связи с белками вносит вклад в разнообразие функциональных возможностей белков, создавая пока еще проблему для понимания основных функций и потенциала гликанов сперматозоидов. Однако скачкообразное развитие методов и приборов для гликоанализа повлекло за собой огромный массив новых исследований, поскольку через углеводную призму уже изученные функции белков стали выглядеть совсем иначе.

Гликирование – спонтанная неферментативная реакция между карбонильной группой глюкозы или другого восстанавливающего сахара (фруктоза, манноза, фукоза) и NH-группой в белке, или реакция Майяра, которая изменяет его нативную структуру, конформацию, биологическую активность и функции. Существенный вклад в патологию этого процесса вносят внутри- и межмолекулярные поперечные сшивки в белках. Очевидным примером результата процесса гликирования белков в тканях организма человека могут служить проявления последствий сахарного диабета: диабетическая стопа, катаракта, почечная недостаточность, тромбозы, атеросклероз, повреждение сердечно-сосудистой системы, инсульт.

Литературные данные и опубликованные авторами исследования [71, 72] показывают, что метод Фурье ИК-спектроскопии является полезным инструментом при изучении эякулята и его составляющих, позволяя получать важную информацию о вещественном составе исследуемого материала и визуализировать изменения в их структуре при различных патологиях. Это, в свою очередь, послужило основанием для проведения предварительных экспериментов с серией образцов паренхимы яичек мужчин разной возрастной категории, поскольку состояние ее здоровья напрямую связано с фертильностью пациентов. А качество спермы, отражая состояние здоровья паренхимы, является биомаркером и общего состояния мужского организма в целом, индивидуальные проблемы которого вносят свою лепту в механизм и динамику зарождения и развития патологических событий, усложняя общую картину нарушений процесса сперматогенеза, которые могут привести к бесплодию и комплексу других проблем.

В отличие от достаточно широкого спектра публикаций по исследованию эякулята, работы по применению метода Фурье ИК-спектроскопии в изучении паренхимы яичек отсутствуют. Есть информация о возможности применения методов магнитно-резонансной томографии, Рамановской, ЯМР, масс-спектроскопии в андрологии и урологии к исследованию паренхимы яичек для выявления признаков наличия олигозооспермии и азооспермии [73–76]. Метод электронной спектроскопии (ближняя инфракрасная область) применялся при оценке возможностей для диагностики азооспермии и дифференциации перекута яичек от таких заболеваний, как варикоцеле, орхидоэпидидимит, опухоли и воспалительные процессы [77–79]. Биохимия основной ткани яичка изучена недостаточно.

Цель данного предварительного этапа работы – сравнительное исследование паренхимы яичек и эякулята для оценки и визуализации диагностических возможностей метода Фурье ИК-спектроскопии в диапазоне 4000–400 см⁻¹ при появлении и развитии патологических процессов в ткани через обратную связь об информации о качестве эякулята. А также оценка возможности наблюдения приоритета и последовательности в изменениях вещественного состава ткани.

Объекты и методы исследования

Объектом исследования стали девять замороженных образцов паренхимальной ткани яичек мужчин разной возрастной категории (таблица 1), предоставленные Бюро судебно-медицинской экспертизы Санкт-Петербурга, и нативные образцы эякулята в норме и с разной степенью патологии – спермограммы медицинской лаборатории EML (Санкт-Петербург) – таблица 2.

Таблица 1. Образцы паренхимы мужских яичек (2023 г.)

Table 1. Samples of male testicular parenchyma (2023)

№ образца	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Возраст, лет	47	90	77	61	69	72	78	44	72

Таблица 2. Некоторые показатели спермограмм эякулята

Table 2. Some parameters of ejaculate spermograms

Образец	V, мл	Конц., млн/мл	Кол-во, млн/эяк	Живые, %	Мертвые, %	Неподвиж. %	Подвижные, %	Норма, %	Дефекты, %		
									головка	шейка	хвостик
Норма											
1	2,0	71,9	143,8	100	0	24	76	9	60	26	5
2	4,5	120,9	544,0	93	7	9	91	11	62	18	4
3	2,2	289,0	624,8	84	16	17	83	5	72	19	4
4	4,0	41,1	164,4	84	16	30	70	16	61	16	7
Признаки патологии											
5	3,5	63,0	220,5	74	26	20	71	3	87	8	2
6	2,0	109,5	219,5	62	38	29	71	18	50	12	2
7	4,0	49,8	418,2	70	30	36	63	19	70	10	1
Выраженная патология											
8	2,5	53,8	134,6	58	42	35	46	11	53	31	4
9	2,0	3,4	6,8	7	93	95	5	0	36	60	4
10	2,5	5,1	12,75	13	87	97	3	1	86	10	3
11	1,5	102,9	154,3	49	51	51	49	19	54	20	1

Колебательные спектры (32 скана) образцов паренхимы и эякулята, высушенных воздушно (20–22°C) на предметных стеклах, получали на Фурье-спектрометре Tensor 37 (Bruker, Германия) с алмазным НПВО элементом, управляемым программным пакетом OPUS со стандартными градуировочными возможностями, в диапазоне частот 4000–600 см⁻¹ в формате поглощения. Обработка полученных данных проводилась в программе Origin.

Результаты и их обсуждение

Поскольку объектом исследования являлись биологические ткани, с иллюстративной целью для лучшего понимания языка ИК-спектров и наглядности, на рисунке 1 приведен общий вид спектров, типичных для биологических веществ трех основных классов: сухих образцов полисахарида семян льна, яичного альбумина и льняного масла. Каждый класс веществ имеет свой характерный рисунок спектра и индивидуальные области проявления основных, характеристичных полос.

ИК-спектр яичного альбумина представлен парой полос в области 1680–1540 см⁻¹ (Амид I и Амид II), которые обязаны колебаниям карбонильных C=O-групп пептидной связи, и полосами в высокочастотной области (3250 и 3220 см⁻¹), обусловленными колебаниями NH-группировок пептидной связи [80]. Спектр льняного масла – типичный для липидов растительного и животного происхождения – заметно отличается от спектра остальных веществ. В нем отсутствуют полосы в области 3600–3050 см⁻¹, узкая полоса при 1743 см⁻¹ принадлежит колебаниям C=O-группировок жирных кислот в составе триглицеридов, полоса в виде выраженного «трезубца» с максимумом при 1160 см⁻¹ обусловлена колебаниями C–O связей карбоновых кислот.

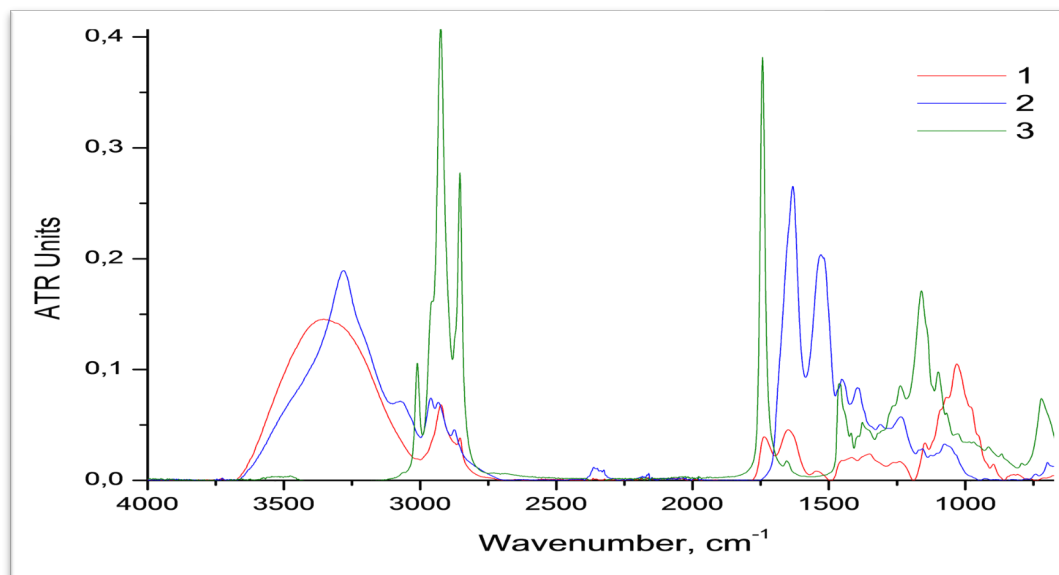


Рисунок 1 – Общий вид ИК-спектров веществ трех основных классов:

1 – полисахарид семян льна (2,4% белка), 2 – яичный альбумин, 3 – льняное масло

Figure 1. General view of the IR spectra for the substances of three main classes: 1 – flax seed polysaccharide (2.4% protein), 2 – egg albumin, 3 – linseed oil

Наиболее характерной для сахаридов является широкая структурированная полоса с максимумом 1030 см^{-1} , где регистрируются колебания структурных элементов углеводных циклов. Уширенная полоса в области $3600\text{--}3050\text{ см}^{-1}$ их спектров обусловлена поглощением ОН-групп, в том числе и связанных молекул воды. Наличие пары слабых полос в спектре полисахарида в области поглощения протеиновых структур связано с наличием в образце 2,4% примеси белка.

В спектрах всех трех образцов наблюдаются полосы в области $3010\text{--}2800\text{ см}^{-1}$, доминирующие в спектральной кривой льняного масла. Так проявляют себя валентные асимметричные и симметричные колебания CH_2 -функциональных группировок, которые присутствуют в структуре молекул веществ всех классов.

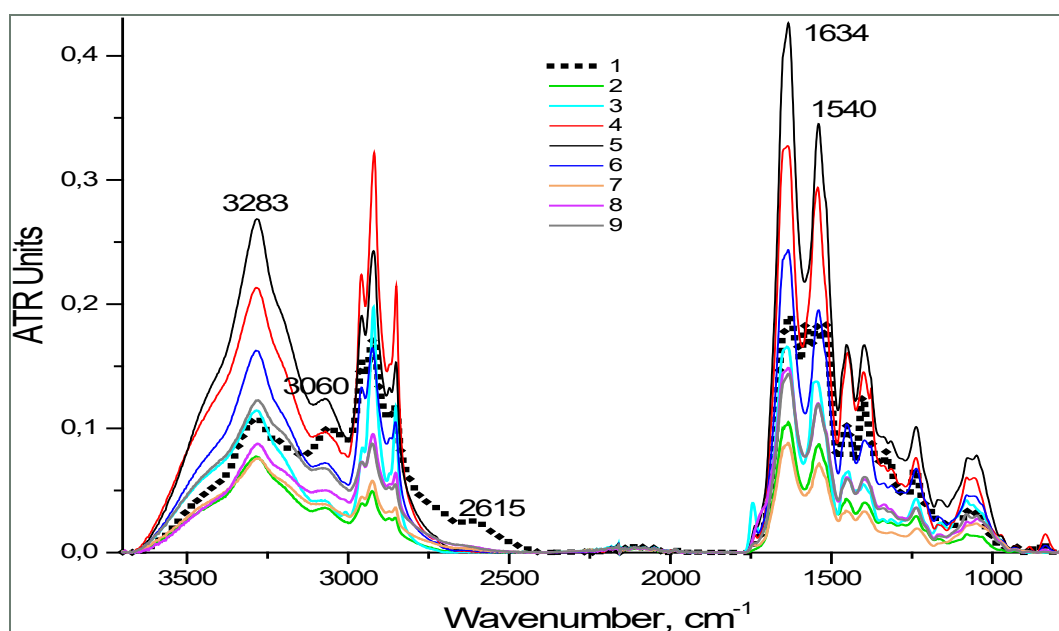


Рисунок 2 – Общий вид ИК-спектров образцов паренхимы яичек

Figure 2. General view of the IR spectra for testicular parenchyma samples

Общий вид ИК-спектров исследуемых образцов паренхимальной ткани яичек (рисунок 2) позволяет увидеть, что основу ее оптических свойств составляют белки, проявляющиеся хорошо выраженными полосами Амид-I (1634 см^{-1}) и Амид-II (1540 см^{-1}) и полосами 3283 и 3060 см^{-1}

в высокочастотной области, обусловленными колебаниями NH-группировок пептидных связей аминокислотных остатков в их составе. И именно здесь уже сразу заметна разница в характерном рисунке спектральной кривой образца № 1, выделяющим его из состава группы рассматриваемых образцов паренхимы.

Выделение и увеличение (рисунок 3) участков спектра, где представляют себя белковые структуры дает возможность более детально и наглядно увидеть основные отличия оптических свойств образца № 1 от остальных:

➤ при разной интенсивности, но близком положении полос 3285–3283 и 3070–3062 см⁻¹ (рисунок 3а) в спектрах всей серии образцов соотношение их интенсивностей A_{3283}/A_{3062} в спектре образца № 1 минимально; при этом укорачивается правая ветвь полосы 3283 см⁻¹, а на ее спаде несколько более проявлена небольшая полоска 3192 см⁻¹, принадлежащая колебаниям NH-группировок пептидной связи в составе полипептидных структур;

➤ явно выраженная деформация обеих амидных полос – 1628 и 1543 см⁻¹ (рисунок 3б) говорит о заметных нарушениях в белковых структурах, а появление полосы 1578 см⁻¹ и относительно высокая выраженность полосы 1514 см⁻¹ так же указывают на наличие в структуре ткани образца № 1 значительной доли полипептидных компонентов [81].

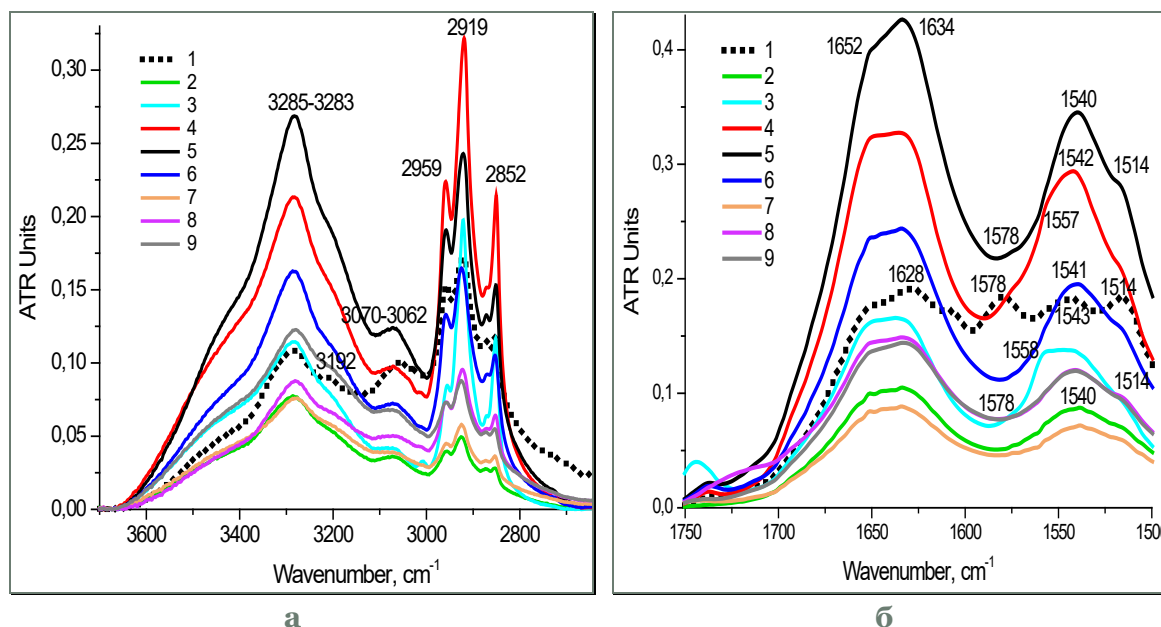


Рисунок 3 – Фрагменты ИК-спектров паренхимы яичек: а) 3700–2700, б) 1750–1500 см⁻¹
Figure 3. Fragments of IR spectra for testicular parenchyma: а) 3700–2700, б) 1750–1500 cm⁻¹

В рассматриваемой серии иначе, но так же заметно выделяется образец № 3 – деформация полосы Амид-II (рисунок 3б) с уширением и смещением максимума 1558 см⁻¹. Однако более детальный пофрагментный анализ спектров всей совокупности полученных данных позволил отметить наличие очень слабых пептидных полос 1578 см⁻¹ в спектрах № 3–№ 5 (рисунок 3б), что явилось предпосылкой для условного разделения образцов на две группы с выделением из серии образца № 1.

Кроме того, основанием как для выделения образца № 1, так и условного разделения всей совокупности образцов паренхимы на группы послужили результаты сравнительного исследования выборки образцов эякулята в норме и с разной степенью патологии (таблица 2), разбитой так же, согласно спектральным показателям, на три подгруппы: норма, признаки патологии, выраженная патология (рисунок 4).

Анализ общего вида спектров на рисунке 4 позволяет наблюдать характерную динамику в изменении спектральных характеристик образцов по мере ухудшения качества эякулята, наиболее ярко проявляющуюся в изменении оптических свойств протеиновых компонентов:

✓ прежде всего следует отметить прямо противоположное изменение соотношения интенсивностей полос A_{3269}/A_{2929} (рисунок 4а), обусловленных колебаниями NH- и CH₂-группировок, при переходе

от группы к группе (рисунок 4в), сопровождаемое ярко выраженной последовательной трансформацией рисунка группы полос в данном диапазоне;

✓ изменение сопровождается ростом интенсивности (ось ординат) группы полос в высокочастотной области ($3600\text{--}2800\text{ см}^{-1}$) и в области поглощения протеинов ($1750\text{--}1500\text{ см}^{-1}$), указывающее на разрушение белковых структур (амидные полосы, рисунок 4а и 4б) и увеличение доли пептидных образований ($1578\text{--}1574\text{ см}^{-1}$, рисунок 4в) в образцах эякулята с выраженной патологией, так же наблюдавшееся в спектре паренхимы образца № 1 (рисунок 3б).

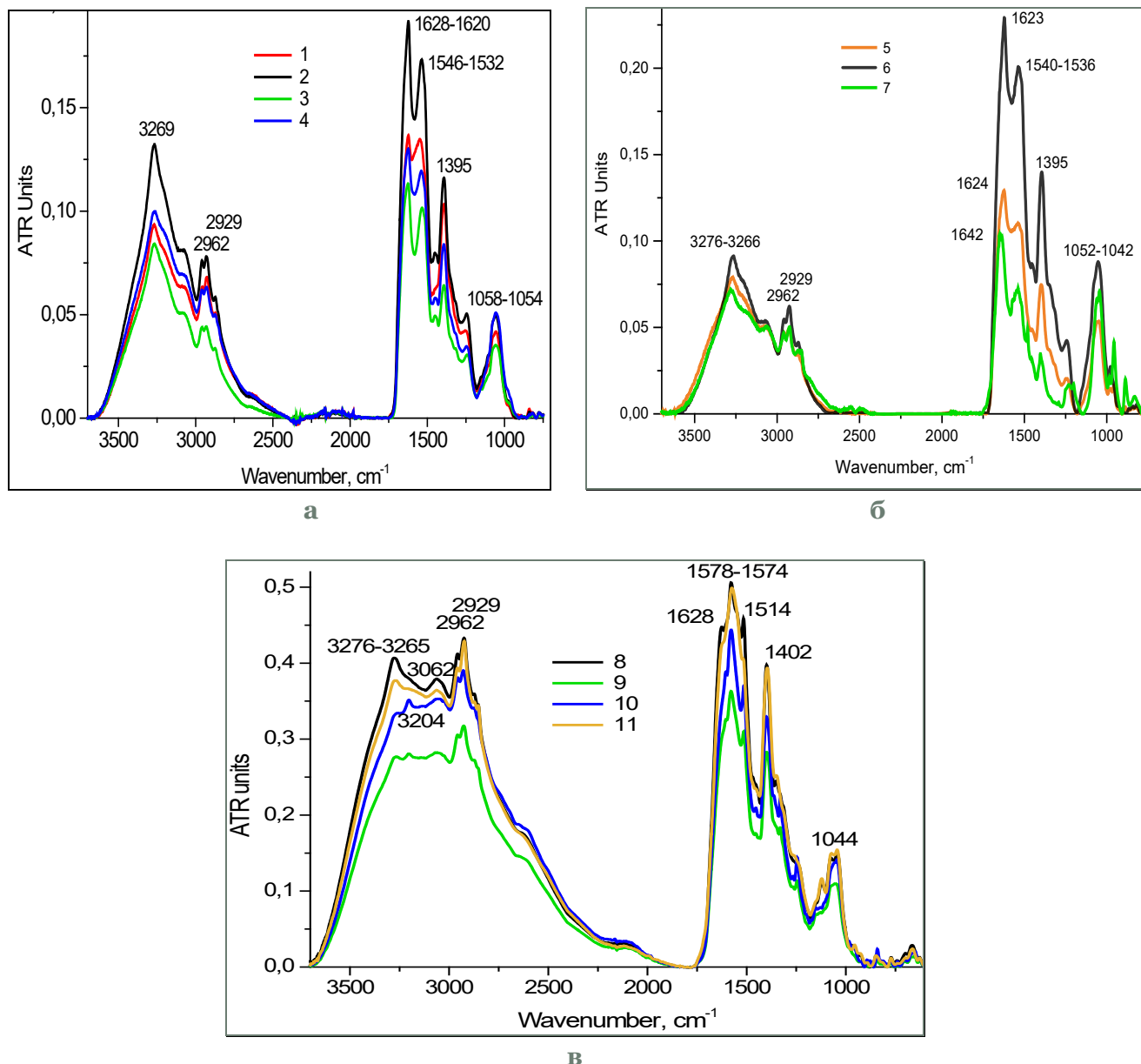


Рисунок 4 – Общий вид ИК-спектров образцов эякулята: а) норма, б) признаки патологии, в) выраженная патология

Figure 4. General view of the IR spectra for ejaculate samples: a) the norm, b) signs of pathology, c) pronounced pathology

Анализируя пофрагментарно спектры эякулята в области проявления углеводных и липидных компонентов (рисунок 5), можно также отметить характерные изменения в оптических свойствах и этих составляющих с ухудшением качества образцов. При этом следует учитывать, что вклад в оптические свойства эякулята вносят не только клетки сперматозоидов (их качество, концентрация), но и все компоненты плазмы, в том числе и сопутствующие, часто в значимом количестве, клеточные структуры (клетки сперматогенеза, лецитиновые зерна, лейкоциты).

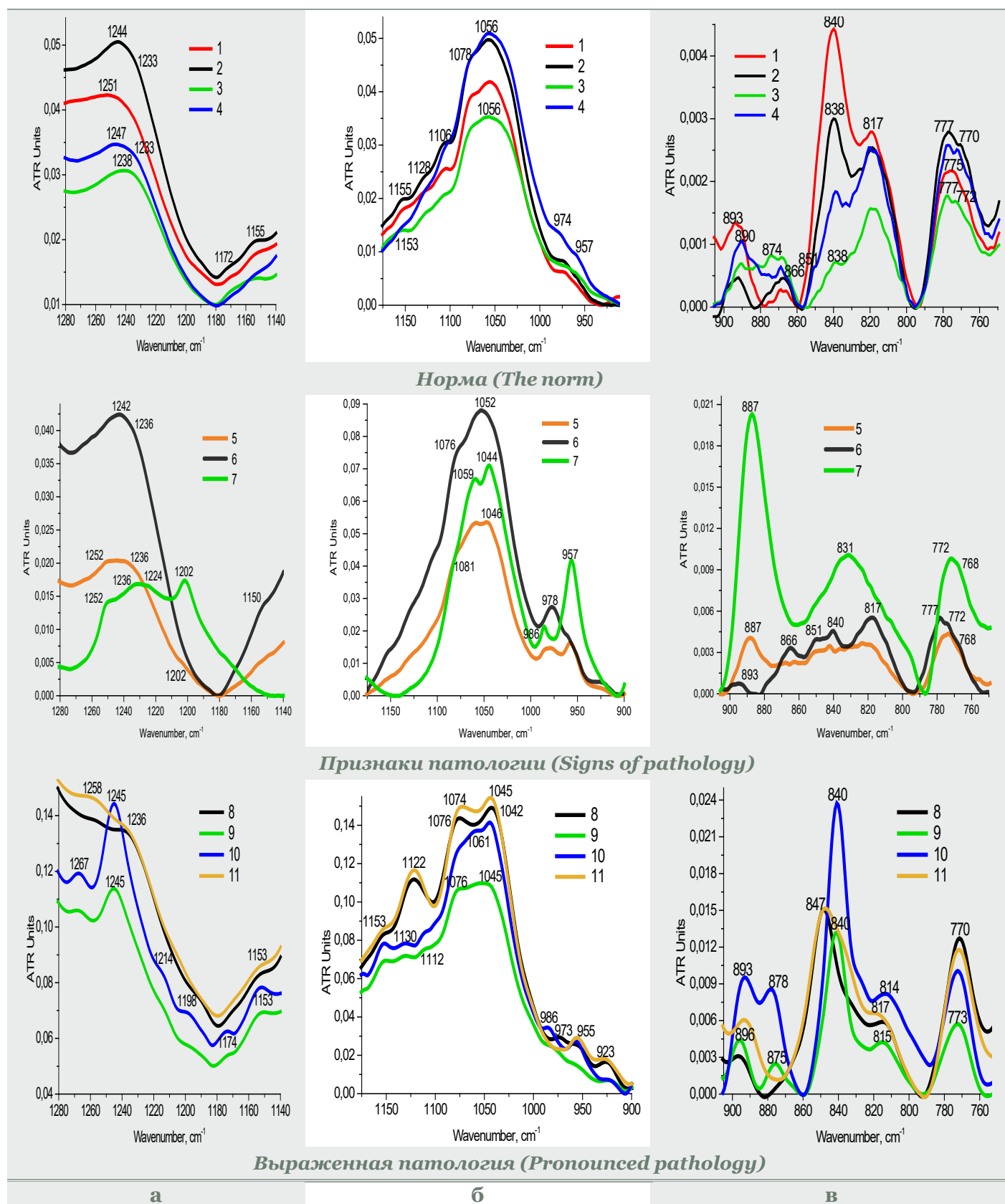


Рисунок 5 – Фрагменты ИК-спектров эякулята в норме и разной степени патологии:

а) 1280–1140, б) 1175–900, в) 905–750 cm^{-1}

Figure 5. Fragments of the IR spectra for normal ejaculate and the one with varying degrees of pathology:

а) 1280–1140, б) 1175–900, в) 905–750 cm^{-1}

Фрагменты рисунка «а» – область, где могут проявляться пептиды, фосфолипиды, коротко- и длинноцепочечные карбоновые кислоты, моносахариды (глюкоза, фруктоза) и их всевозможные комплексы [71, 72]:

■ для образцов категории «норма» характерен спокойный пологий тип спектральной кривой с несколько уширенным максимумом в области $1251\text{--}1238\text{ см}^{-1}$, представляющей суммарно оптические свойства глико-пептид-фосфолипидных комплексов, в которых доминируют свойства пептидной составляющей, и дублетом полос $1172/1155\text{ см}^{-1}$ – блок коротко- и длинноцепочечных карбоновых кислот [82, 83];

■ признаки проявления патологии в данном диапазоне шкалы волновых чисел лучше всего иллюстрирует спектр образца № 7, демонстрируя широкую структурированную полосу и раскрывая тем самым состав комплексных образований: пептидная составляющая – 1252 см^{-1} , фосфолипидная – 1236 см^{-1} (PO_2 – фосфатная голова фосфолипидов), углеводная – 1202 см^{-1} (β -пиранозная форма глюкозы); для данной категории образцов замечено исчезновение дублета полос карбоновых кислот;

■ выраженная патология также показала себя в двух существенно различающихся формах спектральных кривых: образцы № 8 и № 11 – уширенная полоса с проявленными в разной степени в ней пептидами (1258 см^{-1}) и фосфолипидами (1236 см^{-1}), отсутствует дублет карбоновых кислот, из которого слабой интенсивности полосой 1153 см^{-1} представлены длинноцепочечные кислоты; в спектрах образцов № 9 и № 10, напротив, полосами разной интенсивности (1267 и 1245 см^{-1}) идентифицируются пептидные компоненты, полосой 1198 см^{-1} – β -глюкопираноза, кислотный дублет трансформирован и представлен достаточно четко двумя полосами 1174 и 1153 см^{-1} , говорящими об уменьшении длины цепочек жирных кислот в составе липидного бислоя.

Фрагменты рисунка «б» – область, где преимущественно регистрируются колебания структурных элементов (C-O, C-O-C, C-C) пиранозных циклов моносахаридов, позволяет отметить заметное изменение фактуры полосы с ухудшением качества образцов; и здесь признаки патологии выделяют образец № 7 структуризацией максимума полосы и дифференциацией полосы 957 см^{-1} ; для образцов с явно выраженной патологией и в данном регионе наблюдается подразделение на две подгруппы по форме максимума основной полосы и выделению полосы 1122 см^{-1} в спектрах № 8 и № 11.

Фрагменты рисунка «в» – в диапазоне $875\text{--}750\text{ см}^{-1}$ наиболее наглядно позиционируют себя функциональные группировки моносахаридов в зависимости от конфигурации и конформационной формы их пиранозных циклов, что очень хорошо иллюстрируют спектры образцов в норме [84, 85]:

■ полосы глюкозы – $838\text{--}840$ и $775\text{--}770\text{ см}^{-1}$, фруктозы – 817 и 777 см^{-1} , указывающие на их разное соотношение в составе тестируемых образцов; в области $905\text{--}875\text{ см}^{-1}$ могут проявляться мало изученные α - и β -фуранозные формы обеих моноз и именно здесь в спектрах образцов № 3 и № 4 намечены искажения полос, наиболее выраженные в спектре образца № 3;

■ разнообразие признаков появления патологии отмечается именно в данном регионе шкалы волновых чисел, что заметно отличает спектры всех трех образцов, выделяя образец № 7, в котором доминируют оптические свойства глюкозы;

■ напротив, с увеличением степени патологии в оптических свойствах образцов наблюдается больше единообразия, обусловленного опять же свойствами разных форм глюкозы, но разделение на подгруппы наблюдается и в этом диапазоне.

Анализ фрагментов спектров образцов паренхимы группы I – № 2, № 6–№ 9, отобранных исходя из оптических свойств протеиновых структур (рисунок 6 а, б), показывает, что они отличаются между собой по интенсивности амидных полос (рисунок 6а) и полос, обусловленных колебаниями NH-группировок пептидной связи (рисунок 6б), но близки по фактуре спектральных кривых. Рисунок 6в, представляя фрагменты спектров в области, где могут проявляться фосфолипиды (1236 см^{-1}) и блок коротко- и длинноцепочечных жирных кислот ($1172\text{--}1155\text{ см}^{-1}$) [82, 83], говорит также об относительном благополучии липидных компонентов в структуре ткани данных образцов. Наиболее правильный рисунок полосы $1172\text{--}1155\text{ см}^{-1}$ имеют спектры образцов № 2 и № 8, у образцов № 7 и № 9 он несколько сглажен. В спектрах всех образцов, кроме № 7, слабым плечом 1202 см^{-1} просматривается β -пиранозная структура глюкозы, которая может входить в состав глико-фосфолипидного комплекса, как структурная единица большинства олигосахаридов.

Однако, как видно из рисунка 6г, образцы более заметно отличаются по характеру спектральных кривых в области поглощения структурных элементов (C-O, C-O-C) пиранозных циклов углеводных компонентов. Из всех рассмотренных в данном диапазоне спектров более правильную форму имеет

уширенная структурированная полоса с максимумом 1050 см^{-1} , обусловленным фруктозой, в спектре образца № 7. Небольшое смещение максимума в положения 1048 см^{-1} , рост интенсивности плеча 1080 см^{-1} в спектрах образцов № 8, № 9 и № 6 указывает на увеличение в них доли глюкозы.

О присутствии во всех образцах глюкозы в α -пиранозной форме говорят слабо выраженные в виде плечей полосы 1009 см^{-1} на спаде правых ветвей основных полос [83, 84]. Глюкоза в β -пиранозной форме в виде слабого плеча 988 см^{-1} наблюдалась только в спектре образца № 7. Относительно образца № 2 можно сказать, что при хорошем состоянии белковых и липидных структур, углеводный комплекс его ткани претерпел существенные изменения.

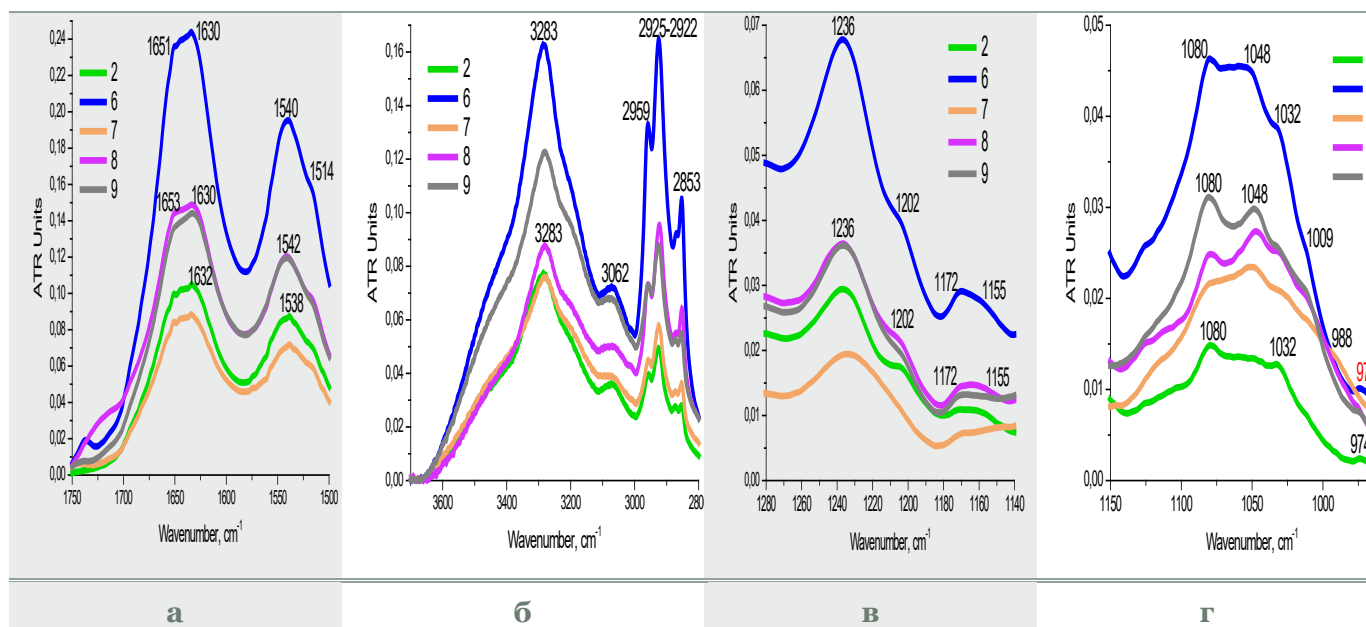


Рисунок 6. Фрагменты ИК-спектров паренхимы яичек группы I: а) $1750\text{--}1500$, б) $3700\text{--}2800$, в) $1280\text{--}1140$, г) $1175\text{--}950\text{ см}^{-1}$

Figure 6. Fragments of the IR spectra for testicular parenchyma of group I: а) $1750\text{--}1500$, б) $3700\text{--}2800$, в) $1280\text{--}1140$, г) $1175\text{--}950\text{ см}^{-1}$

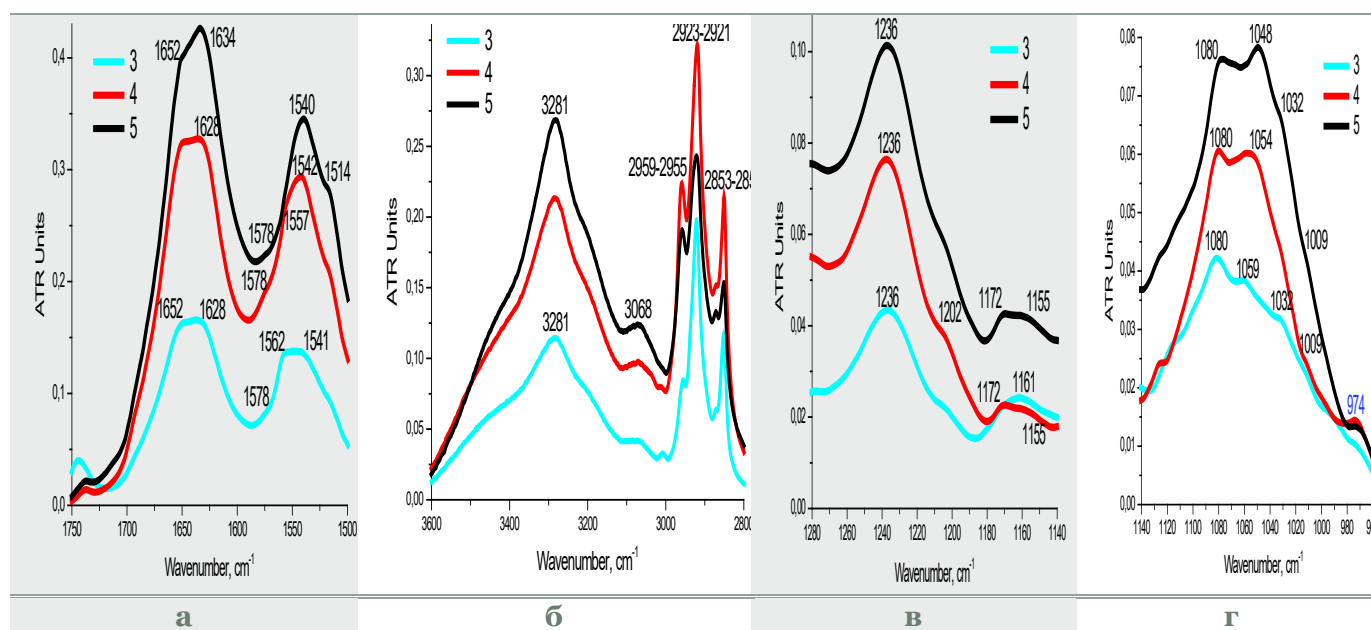


Рисунок 7 – Фрагменты ИК-спектров паренхимы яичек группы II: а) $1750\text{--}1500$, б) $3700\text{--}2800$, в) $1280\text{--}1140$, г) $1175\text{--}950\text{ см}^{-1}$

Figure 7. Fragments of the IR spectra for testicular parenchyma of group II: а) $1750\text{--}1500$, б) $3700\text{--}2800$, в) $1280\text{--}1140$, г) $1175\text{--}950\text{ см}^{-1}$

Рисунок 7 иллюстрирует фрагменты спектров образцов паренхимы группы II, в которую вошли образцы № 3–№ 5 с отмеченными в них слабыми признаками присутствия полос пептидных компонентов – 1578 см^{-1} (рисунок 7а). В данной группе образцов по полосам 1236 и 1202 см^{-1} так же видны признаки глико-фосфолипидных комплексов, но несколько искажена полоса $1172\text{--}1155\text{ см}^{-1}$, что особенно заметно по спектру № 3. Образец № 3 изначально выделялся деформированной полосой Амид-II ($1562\text{--}1541\text{ см}^{-1}$), говорящей о нарушениях в структуре белков (рисунок 7а), на нарушения в липидной системе указывает форма полосы с максимумом 1161 см^{-1} .

Однако более выражены его отличия в области проявления углеводных структур (рисунок 7г) – искаженная форма полосы с максимумом 1080 см^{-1} и структурированной правой ветвью. Основное отличие спектров образцов № 4 и № 5 от спектров образцов группы I в данном диапазоне в форме и крутом спаде правой ветви более узких полос.

Поскольку изменения оптических свойств с ухудшением качества паренхимы яичек ярче всего выражены через колебания структурных элементов пиранозных циклов глюкозы и фруктозы, рисунок 8 представляет фрагменты спектров обеих групп в диапазоне $905\text{--}750\text{ см}^{-1}$, где проявляются колебания функциональных группировок α - и β -пиранозных форм обеих моноз.

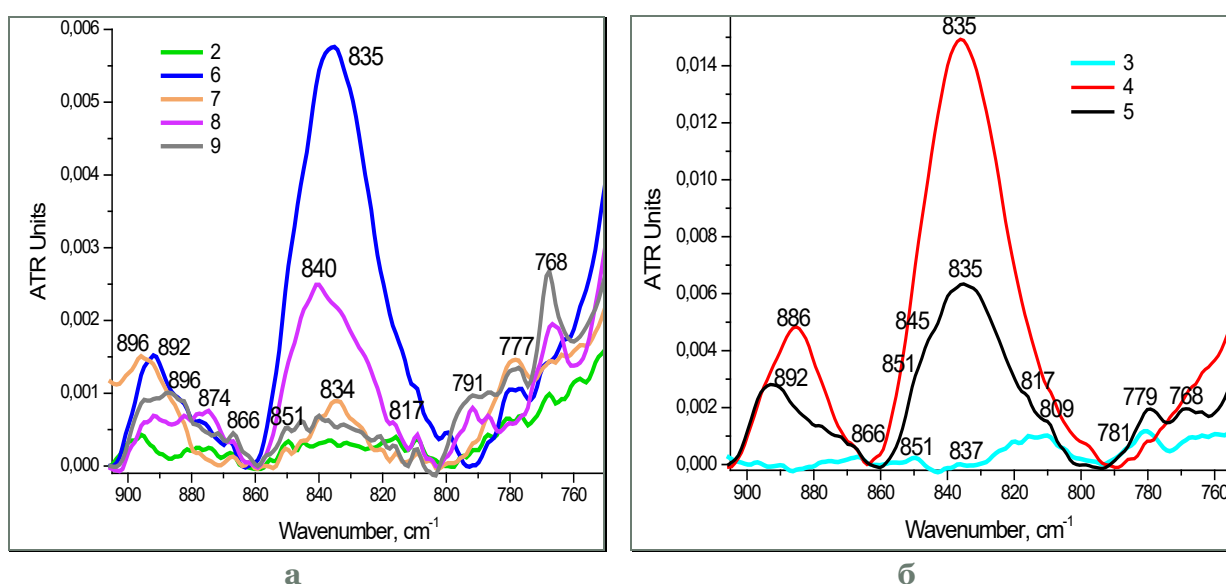


Рисунок 8 – Фрагменты $905\text{--}750\text{ см}^{-1}$ ИК-спектров образцов паренхимы яичек, группа: а) I, б) II
Figure 8. Fragments of $905\text{--}750\text{ см}^{-1}$ IR spectra for testicular parenchyma samples, groups: а) I, б) II

Определяющими являются полосы в области $874\text{--}750\text{ см}^{-1}$:

- α - ($851\text{--}840$, 770 см^{-1}) и β - ($835\text{--}830$, $768\text{--}766\text{ см}^{-1}$) пиранозных форм глюкозы;
- α - (866 и 777 см^{-1}) и β - (817 и 781 см^{-1}) пиранозных форм фруктозы.

В области $900\text{--}874\text{ см}^{-1}$, как отмечалось, могут проявляться мало изученные α - и β -фуранозные формы глюкозы и фруктозы.

Анализ полученных фрагментов спектров дает основание полагать, что необычный характер в данном диапазоне спектральных кривых № 2, № 3 и № 9, отличающий их от всей совокупности остальных спектральных кривых, обусловлен возрастным фактором (90, 77, 72 года). Однако, если при этом в образце № 9 нарушения наблюдались только в липидной системе (рисунок 6в), а в образце № 3 отклонения отмечены как в липидной, так и белковой (рисунок 7а и в), то в образце № 2 изменения в этих системах отсутствовали.

В спектрах образцов обеих групп № 4–№ 8 присутствуют преимущественно полосы β -пиранозной формы глюкозы $834\text{--}840$ и 768 см^{-1} . Фруктоза слабыми полосами 866 , 817 и 777 см^{-1} проявляется в спектрах образцов группы I – № 6–№ 8 и не наблюдалась в спектрах образцов группы II.

Рисунок 9 представляет фрагменты спектров образцов № 1, № 7 и № 8, сопоставление которых позволяет визуализировать динамику изменения оптических свойств в каждом регионе шкалы волновых чисел с ухудшением качества паренхимы. Хорошо сформированные в спектрах № 7 и № 8 обе амидные полосы (рисунок 9а), в спектре образца № 1 представлены деформированными белковыми

полосами 1630 и 1542 cm^{-1} и выраженными пептидными – 1578 и 1514 cm^{-1} . В области поглощения липидных компонентов (рисунок 9б) – полоса 1172–1155 cm^{-1} правильной формы в спектре № 8, несколько деформирована в спектре образца № 7 со смещением второго максимума в положение 1147 cm^{-1} , указывающим на увеличение длины длинноцепочечных жирных кислот. И полностью разрушена со смещением обоих максимумов в высокочастотную область – 1176 и 1157 cm^{-1} спектре образца № 1, что, напротив, является признаком уменьшения длины цепочек обеих категорий жирных кислот.

Полоса фосфолипидов (1236 cm^{-1}) в спектре образца № 1 смещена в положение 1240 cm^{-1} и это сопровождается появлением пептидной полосы 1267 cm^{-1} и двух плечей (1200 и 1198 cm^{-1}) на спаде правой ветви максимума 1240 cm^{-1} , обусловленных разными конформационными формами β -глюкопиранозы. Все отмеченное указывает на формирование в структуре ткани устойчивых гликопептид-фосфолипидных комплексов. В спектре образца № 8 они только намечаются (1204 cm^{-1}) и отсутствуют в ткани образца № 7. Следует отметить, что близкие по форме полосы наблюдались для образцов эякулята № 9 и № 10 с выраженной патологией (рисунок 5а).

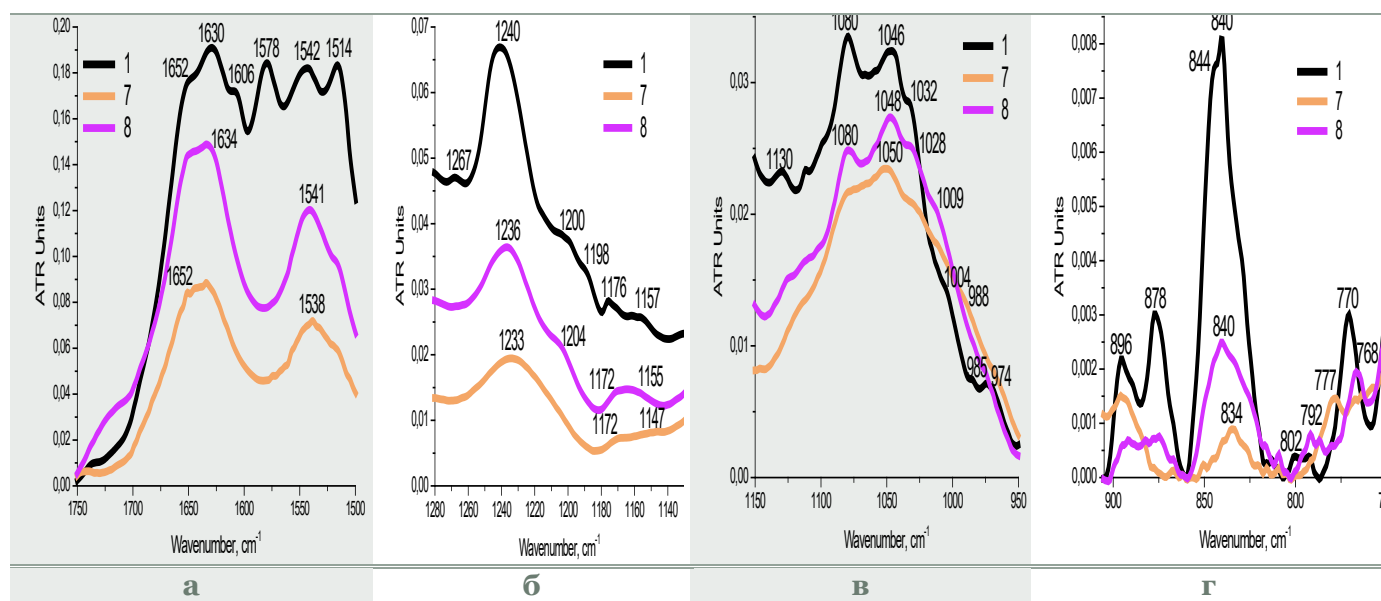


Рисунок 9 – Фрагменты ИК-спектров образцов паренхимы № 1, № 2 и № 7: а) 1750–1500, б) 1280–1130, в) 1150–1130, г) 905–750 cm^{-1}

Figure 9. Fragments of the IR spectra for parenchyma samples no. 1, no. 2, and no. 7: a) 1750–1500, b) 1280–1130, c) 1150–1130, d) 905–750 cm^{-1}

Оптические свойства в области поглощения углеводов (рисунки 9в и г) показывают, что при правильной форме спектральной кривой образца № 7 (рисунок 9в) с максимумом 1050 cm^{-1} , указывающим на доминирование свойств фруктозы, на правой ветви плечами 1009 и 988 cm^{-1} позиционируют себя α - и β -пиранозные формы глюкозы соответственно. Дифференциация и увеличение интенсивности полосы 1080 cm^{-1} и последовательное смещение основного максимума в более низкочастотную область (1048, 1046 cm^{-1}) в спектрах образцов № 8 и № 1 говорят о нарастающих нарушениях в их углеводной системе. При этом из спектра образца № 8 уходит полоса 988 cm^{-1} , а из спектра № 1 обе, что сопровождается более крутым спадом правой ветви полосы с выраженной структуризацией максимума.

Не менее наглядно последовательность в изменении оптических свойств по мере снижения качества паренхимы просматривается и в области проявления функциональных группировок моносахаридов (рисунок 9г). Полосы фруктозы 896 и 777 cm^{-1} в спектре образца № 7 замещаются, соответственно, уширенной структурированной полосой 896–874 cm^{-1} и полосой 768 cm^{-1} β -глюкопиранозы в спектре образца № 8. В спектре образца № 1 они преобразуются в две полосы – 896 и 878 cm^{-1} и полосу α -глюкопиранозы 770 cm^{-1} . Последовательность в ухудшении состояния паренхимы для данных образцов просматривается и по увеличению интенсивности полосы глюкозы 834 cm^{-1} со структуризацией и смещением ее максимума в положение 840 cm^{-1} .

Весь набор исследованных образцов паренхимы яичек, схематично представленный в таблице 3, иллюстрирует последовательный характер изменения оптических свойств углеводных, липидных и протеиновых компонентов по мере увеличения степени патологии. В данной схеме интересны два образца: ✓ № 2 (90 лет) – по спектральным данным белковая и липидная составляющие ткани яичка находятся в хорошем состоянии, а оптические свойства углеводных компонентов не позволяют извлечь вообще никакой информации, что явилось основанием для предположения, во-первых, возможности проявления в такой форме возрастных изменений в углеводной системе, подтвержденное в дальнейшем на образцах № 3 и № 9, и, во-вторых, скорее всего, что стартовыми для начала патологических процессов в ткани могут быть изменения в ее углеводной части, что также подтвердилось анализом всей совокупности данных, представленных в таблице 3;

✓ № 7 (78 лет) – белковая и углеводная системы в хорошем состоянии (не отмечено возрастных изменений) и несколько ослаблена липидная, что можно связать с сухощавой конституцией человека.

Таблица 3. Динамика вещественного состава образцов паренхимы яичек с ухудшением ее качества
Table 3. Dynamics of the material composition of testicular parenchyma samples while its quality is deteriorated

Образец	Белок, 1750–1500 см ⁻¹	Липиды, 1180–1150 см ⁻¹	Углеводы		возрастные изменения
			1150–950 см ⁻¹	905–750 см ⁻¹	
2	–	–	+++	+++	+
7	–	+	–	–	
8	–	–	+	+	
6	–	+	+	+	
9	–	+	++	+++	+
4	+	+	++	++	
5	+	+	++	++	
3	++	++	+++	+++	+
1	+++	+++	+++	+++	

Анализ образцов в рассматриваемой в таблице 3 последовательности их расположения показывает, что появление первых признаков нарушений в углеводной системе паренхимы еще не затрагивает другие (№ 8). Однако с увеличением их доли первой начинает страдать липидная система за счет отклонений в блоке коротко- и длинноцепочечных жирных кислот (№ 6, № 9). Развитие патологии на базе уже имеющихся нарушений в углеводной и липидной системах неизбежно приводит к последовательной деградации (№ 4, № 5, № 3) и частичному разрушению белковых составляющих ткани (№ 1).

Деструкция белковых структур сопровождается их замещением формируемыми в составе ткани глико-пептид-фосфолипидными комплексами. Последний этап хорошо фиксируется по спектральным кривым как паренхимы яичек, так и эякулята в областях спектра, где регистрируются уже частично разрушенные белковые структуры (1750–1500 см⁻¹) и сформировавшиеся глико-пептид-фосфолипидные комплексы (1280–1140 см⁻¹).

Заключение

Сравнительное исследование серии образцов паренхимы яичек и эякулята экспресс-методом Фурье ИК-спектроскопии показало аналогию в проявлении явно выраженной патологии в паренхиме и эякуляте по наличию в спектрах образцов обеих категорий сформированных полос в области 1575–578 см⁻¹, обусловленных поглощением пептидными структурами, что указывает на значительные нарушения в составе белковых компонентов. Дополнительную информацию о развитии патологических процессов в ткани яичка позволяет получить анализ фрагментов спектров в областях проявления глико-пептид-фосфолипидных и углеводных структур. Показано, что изменения в качестве и паренхимы, и эякулята начинаются с отклонений в углеводной системе, влекущих нарушения в липидной системе и, как следствие, серьезные разрушения белковых структур. При этом отмечено достаточно четкое разделение нарушений в углеводной системе в результате патологических и возрастных изменений.

Полученные данные подтвердили расширенные возможности экспресс-метода Фурье ИК-спектроскопии как дополнительного инструмента диагностики при оценке здоровья мужской репродуктивной системы.

Литература

1. Нишлаг Э., Бере Г.М. Андрология. Мужское здоровье и дисфункция репродуктивной системы. М.: Медицинское информационное агентство, 2005. 554 с.
2. Хайрутдинов К.Н., Ситдыкова М.Э., Зубков А.Ю. Мужское бесплодие – проблема XXI века // Практическая медицина. 2018. Т. 16. № 6. С. 185–189.
3. Auger J., Eustache F., Chevrier C., Jégou B. Spatiotemporal trends in human semen quality. *Nat. Rev. Urol.* 2022, V. 19, no. 10, pp. 597–626. DOI: 10.1038/s41585-022-00626-w
4. Agarwal A., Mulgund A., Hamada A., Chyatte M.R. A unique view on male infertility around the globe. *Reprod Biol Endocrinol.* 2015, V. 13, article 37. DOI: 10.1186/s12958-015-0032-1
5. Wang Ch., Mbizvo M., 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, no. 2, pp. 237–245. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2021.11.037
6. Данилов В.В., Лельчук С.А. Количественная оценка спермограммы у мужчин на основе интервальной шкалы // Андрология и генитальная хирургия. 2013. № 1. С. 44–48.
7. Lefievre L., Bedu-Addo K., Conner S.J., et al. Counting sperm does not add up any more: time for a new equation? *Reproduction.* 2007, V. 133, no. 4, pp. 675–684. DOI: 10.1530/REP-06-0332
8. Björndahl L., Haugen T.B. Hva forteller en sædanalyse? [The information contained in a semen analysis]. *Tidsskr Nor Legeforen.* 2008, V. 128, no. 3, pp. 320–323. (In Norwegian)
9. 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: всё новое – это хорошо забытое старое? // Вестник урологии. 2023. Т. 11. № 1. С. 171–176. DOI: 10.21886/2308-6424-2023-11-1-171-176
10. Руководство ВОЗ по исследованию и обработке эякулята человека // Медико-генетический научный центр РАМН. М.: Капиталпринт. 2012. 305 с.
11. Rocher L., Criton A., Gennisson J., Izard V., Ferlicot S. et al. Testicular shear wave elastography in normal and infertile men: A prospective study on 601 patients. *Ultrasound Med Biol.* 2017, V. 43, no. 4, pp. 782–789. DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2016.11.016
12. Mallidis C., Sanchez V., Wistuba J., Wuebbeling F., Burger M., Fallnich C., Schlatt S. Raman microspectroscopy: shining a new light on reproductive medicine. *Hum Reprod Update.* 2014, V. 20, no. 3, pp. 403–414. DOI: 10.1093/humupd/dmt055
13. 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, no. 11, article 110501. DOI: 10.1117/1.3650310
14. Hesham Said A., Ragab A., Zohdy W., Ibrahim A.S., Abd El Basset A.S. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging and magnetic resonance spectroscopy for non-invasive characterization of azoospermia: A prospective comparative single-center study. *Andrology.* 2023, V. 11, no. 6, pp. 1096–1106. DOI: 10.1111/andr.13392
15. Storey P., Gonen O., Rosenkrantz A.B., Khurana K.K., Zhao T., Bhatta R., Alukal J.P. Quantitative proton spectroscopy of the testes at 3 T: Toward a noninvasive biomarker of spermatogenesis. *Invest Radiol.* 2018, V. 53, no. 2, pp. 87–95. DOI: 10.1097/RLI.0000000000000414
16. 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, no. 3, pp. 309–313. DOI: 10.1366/000370207780220804
17. 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, no. 1, article 106810. DOI: 10.1016/j.microc.2021.106810
18. 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, no. 1, pp. 73–80. DOI: 10.1007/s00414-020-02367-0
19. 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, no. 3, pp. 430–441. DOI: 10.1111/andr.12166
20. Галимов Ш.Н. Митохондриальная дисфункция сперматозоидов в патогенезе мужского бесплодия: молекулярные и генетические аспекты: автореф. дис ... канд. мед. наук. Москва, 2024, 24 с.
21. Галимов Ш.Н., Громенко Ю.Ю., Галимов К.Ш., Галимова Э.Ф., Бодрова Е.С. и др. Молекулярные механизмы мужского бесплодия: основные направления научного поиска // Урология. 2022. № 4. С. 114–117. DOI: <https://dx.doi.org/10.18565/urology.2022.4.114-117>
22. Baskaran S., Agarwal A., Leisegang K., Pushparaj P.N., Panner Selvam M.K., Henkel R. An in-depth bibliometric analysis and current perspective on male infertility research. *World J Mens Health.* 2021, V. 39, no. 2, pp. 302–314. DOI: 10.5534/wjmh.180114
23. 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

24. Lombo M., Ruiz-Díaz S., Gutiérrez-Adán A., Sánchez-Calabuig M.-J. Sperm metabolomics through nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Animals* (Basel). 2021, V. 11, no. 6, article 1669. DOI: 10.3390/ani11061669
25. Cannarella R., Condorelli R.A., Mongioi L.M., La Vignera S., Calogero A.E. Molecular biology of spermatogenesis: Novel targets of apparently idiopathic male infertility. *Int J Mol Sci.* 2020, V. 21, no. 5, article 1728. DOI: 10.3390/ijms21051728
26. Kumar V., Hassan M.I., Tomar A.K., Kashav T., Nautiyal J., Singh S., Singh T.P., Yadav S. Proteomic analysis of heparin-binding proteins from human seminal plasma: a step towards identification of molecular markers of male fertility. *J Biosci.* 2009, V. 34, no. 6, pp. 899–908. DOI: 10.1007/s12038-009-0104-5
27. Уилсон К., Дж. Уолкер (ред.) Принципы и методы биохимии и молекулярной биологии / пер. с англ. 5-е изд. М.: Лаборатория знаний. 2022, 848 с.
28. Луцкий Д.Л., Николаев А.А., Ложкина Л.В. Белковый спектр эякулятов различной фертильности // Урология и нефрология. 1998. № 2. С. 48–52.
29. Barzani Y., Agarwal A., Sabanegh E. Functional sperm testing and the role of proteomics in the evaluation of male infertility. *Urology.* 2014, V. 84, no. 2, pp. 255–261. DOI: 10.1016/j.urology.2014.04.043
30. Naglot S., Tomar A.K., Singh N., Yadav S. Label-free proteomics of spermatozoa identifies candidate protein markers of idiopathic recurrent pregnancy loss. *Reprod Biol.* 2021, V. 21, no. 3, article 100539. DOI: 10.1016/j.repbio.2021.100539
31. Abramovich A., Shulzinger A. Diagnostic and analysis of human sperm characteristics using fourier transform infrared spectroscopy. *Open Journal of Urology.* 2015, V. 5, no. 6, pp. 97–101. DOI: 10.4236/oju.2015.56015
32. Sharma S., Singh R. Detection and discrimination of seminal fluid using attenuated total reflectance Fourier transform infrared (ATR FT-IR) spectroscopy combined with chemometrics. *Int J Legal Med.* 2020, V. 134, no. 2, pp. 411–432. DOI: 10.1007/s00414-019-02222-x
33. Cao X., Cui Y., Zhang X., Lou J., Zhou J., Bei H., Wei R. Proteomic profile of human spermatozoa in healthy and asthenozoospermic individuals. *Reprod Biol Endocrinol.* 2018, V. 16, no. 1, article 16. DOI: 10.1186/s12958-018-0334-1
34. Correnti S., Preianò M., Fregola A., Gamboni F., Stephenson D., Savino R., D'Alessandro A., Terracciano R. Seminal plasma untargeted metabolomic and lipidomic profiling for the identification of a novel panel of biomarkers and therapeutic targets related to male infertility. *Front Pharmacol.* 2023. V. 14, article 1275832. DOI: 10.3389/fphar.2023.1275832
35. Chhikara N., Tomar A.K., Datta S.K., Yadav S. Proteomic changes in human spermatozoa during in vitro capacitation and acrosome reaction in normozoospermia and asthenozoospermia. *Andrology.* 2023, V. 11, no. 1, pp. 73–85. DOI: 10.1111/andr.13289
36. Saraswat M., Joenvaara S., Jain T., Tomar A.K., Sinha A., Singh S., Yadav S., Renkonen R. Human spermatozoa quantitative proteomic signature classifies normo- and asthenozoospermia. *Mol Cell Proteomics.* 2017, V. 16, no. 1, pp. 57–72. DOI: 10.1074/mcp.M116.061028
37. Tomar A.K., Saraswat M., Chhikara N., Kumar S., Yadav V.K., Sooch B.S. et al. Differential proteomics of sperm: insights, challenges and future prospects. *Biomark Med.* 2010, V. 4, no. 6, pp. 905–910. DOI: 10.2217/bmm.10.100
38. Антонов М.П., Жигулина В.В. Липиды сперматозоидов и спермоплазмы эякулята у мужчин с бесплодием // Проблемы репродукции. 2012. № 4. С. 71–75.
39. 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, no. 1, article 105. DOI: 10.1186/s12958-021-00792-3
40. Cheng X., Xie H., Xiong Y., Sun P., Xue Y., Li K. Lipidomics profiles of human spermatozoa: insights into capacitation and acrosome reaction using UPLC-MS-based approach. *Front Endocrinol. (Lausanne).* 2023, V. 14, article 1273878. DOI: 10.3389/fendo.2023.1273878
41. Suhaiman L., Belmonte S.A. Lipid remodeling in acrosome exocytosis: unraveling key players in the human sperm. *Front Cell Dev Biol.* 2024, V. 12, article 1457638. DOI: 10.3389/fcell.2024.1457638
42. Casares D., Escriba P.V., Rossello C.A. Membrane lipid composition: Effect on membrane and organelle structure, function and compartmentalization and therapeutic avenues. *Int J Mol Sci.* 2019, V. 20, no. 9, article 2167. DOI: 10.3390/ijms20092167
43. Титов В.Н. Филогенетическая теория общей патологии. Формирование семи биологических функций, семи специфичных, этиологических факторов метаболических пандемий, единого за миллионы лет патогенеза и основ профилактики // Клиническая лабораторная диагностика. 2017. Т. 62. № 8. С. 452–462. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-8-452-462>
44. Гамидов С.И., Шатылко Т.В., Тамбиев А.Х., Токарева А.О. и др. Липидомный профиль семенной плазмы при необструктивной азооспермии с остановкой созревания сперматозоидов // Вестник урологии. 2021. Т. 9. № 4. С. 30–39. DOI: 10.21886/2308-6424-2021-9-4-30-39
45. Craig L.B., Brush R.S., Sullivan M.T., Zavy M.T., Agbaga M.P., Anderson R.E. Decreased very long chain polyunsaturated fatty acids in sperm correlates with sperm quantity and quality. *J Assist Reprod Genet.* 2019, V. 36, no. 7, pp. 1379–1385. DOI: 10.1007/s10815-019-01464-3
46. Lenzi A., Gandini L., Maresca V., Rago R., Sgro P., Dondero F., Picardo M. Fatty acid composition of spermatozoa and immature germ cells. *Mol Hum Reprod.* 2000, V. 6, no. 3, pp. 226–231. DOI: 10.1093/molehr/6.3.226

47. Aksoy Y., Aksoy H., Altinkaynak K., Aydın H.R., Ozkan A. Sperm fatty acid composition in subfertile men. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2006, V. 75, no. 2, pp. 75–79. DOI: 10.1016/j.plefa.2006.06.002
48. Zalata A., Christophe A.B., Depuydt C.E., Schoonjans F., Comhaire F.H. The fatty acid composition of phospholipids of spermatozoa from infertile patients. *Mol Hum Reprod*. 1998, V. 4, no. 2, pp. 111–118. DOI: 10.1093/molehr/4.2.111
49. Zerbinati C., Caponecchia L., Rago R., Leoncini E., Bottaccioli A.G. et al. Fatty acids profiling reveals potential candidate markers of semen quality. *Andrology*. 2016, V. 4, no 6, pp. 1094–1101. DOI: 10.1111/andr.12236
50. 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, no. 22, article 8659. DOI: 10.3390/ijms21228659
51. Tecle E., Gagneux P. Sugar-coated sperm: Unraveling the functions of the mammalian sperm glycocalyx. *Mol Reprod Dev*. 2015, V. 82, no. 9, pp. 635–650. DOI: 10.1002/mrd.22500
52. Schröter S., Osterhoff C., McArdle W., Ivell R. The glycocalyx of the sperm surface. *Hum Reprod Update*. 1999, V. 5, no. 4, pp. 302–313. DOI: 10.1093/humupd/5.4.302
53. Сатаева Т.П., Ковальчук А.В., Кутя С.А. Жизненный цикл сперматозоида. Норма и нарушения // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. 2018. Т. 8. № 1. С. 113–122.
54. Blawut B., Wolfe B., Premanandan C., Schuenemann G., Ludsins S.A., Liu S.L., et al. Effects of activation and assisted reproduction techniques on the composition, structure, and properties of the sauger (*Sander Canadensis*) spermatozoa plasma membrane. *Theriogenology*. 2023, V. 198, pp. 87–99. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2022.12.021
55. Xin A.J., Wu Y.C., Lu H., Cheng L., Gu Y.H., Diao H., Chen G.W., et al. Comparative analysis of human sperm glycocalyx from different freezability ejaculates by lectin microarray and identification of ABA as sperm freezability biomarker. *Clin Proteomics*. 2018, V. 15, article 19. DOI: 10.1186/s12014-018-9195-z
56. Varki A., Cummings R.D., Esko J.D., Freeze H.H., Hart G.W., Etzler M.E. (Eds.) *Essentials of Glycobiology*. NY, Cold Spring Harbor Laboratory Press. 2008. 784 p.
57. Taylor M.E., Drickamer K. *Introduction to Glycobiology*. Oxford–New York, Oxford University Press. 2011, 304 p.
58. Luo M., Su T., Cheng Q., Zhang X., Cai F., Yin Z., Li F., Yang H., et al. GlycoTCFM: Glycoproteomics based on two complementary fragmentation methods reveals distinctive o-glycosylation in human sperm and seminal plasma. *J Proteome Res*. 2023, V. 22, no. 12, pp. 3833–3842. DOI: 10.1021/acs.jproteome.3c00489
59. Lan R., Xin M., Hao Z., You S., Xu Y., Wu J., Dang L., Zhang X., Sun S. Biological functions and large-scale profiling of protein glycosylation in human semen. *J Proteome Res*. 2020, V. 19, no. 10, pp. 3877–3889. DOI: 10.1021/acs.jproteome.9b00795
60. Clark G.F. The role of carbohydrate recognition during human sperm-egg binding. *Hum Reprod*. 2013, V. 28, no. 3, pp. 566–577. DOI: 10.1093/humrep/des447
61. Walsh Ch.T. *Posttranslational modification of proteins: Expanding nature's inventory*. Englewood, Colo. : Roberts and Co. Publishers. 2006, 490 p.
62. Лукьянов П.А., Журавлева Н.В. Современная гликобиология и медицина // Вестник Дальневосточного отделения РАН. 2004. № 3. С. 24–34.
63. Purohit S., Laloraya M., Kumar P.G. Distribution of N- and O-linked oligosaccharides on surface of spermatozoa from normal and infertile subjects. *Andrologia*. 2008, V. 40, no. 1, pp. 7–12. DOI: 10.1111/j.1439-0272.2008.00801.x
64. Xin M., Xu Y., You S., Li C., Zhu B., Shen J., Chen Z. et al. Precision structural interpretation of site-specific n-glycans in seminal plasma. *J Proteome Res*. 2022, V. 21, no. 7, pp. 1664–1674. DOI: 10.1021/acs.jproteome.2c00046
65. Levery S.B., Steentoft C., Halim A., Narimatsu Y., Clausen H., Vakhrushev S.Y. Advances in mass spectrometry driven O-glycoproteomics. *Biochim Biophys Acta*. 2015, V. 1850, no. 1, pp. 33–42. DOI: 10.1016/j.bbagen.2014.09.026
66. Saraswat M., Joenvaara S., Tomar A.K., Singh S., Yadav S., Renkonen R. N-glycoproteomics of human seminal plasma glycoproteins. *J Proteome Res*. 2016, V. 15, no. 3, pp. 991–1001. DOI: 10.1021/acs.jproteome.5b01069
67. Ансари Н.А., Рашид З. Неферментативное гликирование белков: от диабета до рака // Биомедицинская химия. 2010. Т. 56. № 2. С. 168–178.
68. Гармаза Ю.М., Мизун Д.С., Тамашевский А.В. Роль гликолизированных белков в диагностике и лечении онкозаболеваний // Новости медико-биологических наук. 2023. Т. 23. № 2. С. 98–108.
69. Вербовая Н.И., Лебедева Е.А. Роль гликозилированных продуктов метаболизма в формировании сосудистых осложнений сахарного диабета // Проблемы эндокринологии. 1997. Т. 43. № 1. С. 43–46 DOI: 10.14341/probl199743143-46
70. Yang H., Lin Z., Wu B., Xu J., Tao S.C., Zhou S. Deciphering disease through glycan codes: leveraging lectin microarrays for clinical insights. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2024, V. 56, no. 8, pp. 1145–1155. DOI: 10.3724/abbs.2024123
71. 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

72. Нечипоренко А.П., Ситникова В.Е., Коноваленко А.В., Нечипоренко У.Ю. Метод Фурье ИК-спектроскопии в исследовании эякулята в норме и с олигозооспермией // Научный журнал НИУ ИТМО. Серия: Процессы и аппараты промышленных производств. 2024. № 3. С. 36–58. DOI: 10.17586/2310-1164-2024-17-3-36-58
73. Liu Y., Zhu Y., Li Z. Application of Raman spectroscopy in Andrology: non-invasive analysis of tissue and single cell. Review. *Transl Androl Urol.* 2014, V. 3, no. 1, pp. 125–133. DOI: 10.3978/j.issn.2223-4683.2014.03.01
74. Osterberg E.C., Laudano M.A., Li P.S. Clinical and investigative applications of Raman spectroscopy in Urology and Andrology. *Transl Androl Urol.* 2014, V. 3, no. 1, pp. 84–88. DOI: 10.3978/j.issn.2223-4683.2014.01.02
75. Storey P., Gonen O., Rosenkrantz A.B., Khurana K.K., Zhao T., Bhatta R., Alukal J.P. Quantitative proton spectroscopy of the testes at 3 T: Toward a noninvasive biomarker of spermatogenesis. *Invest Radiol* 2018, V. 53, no. 2, pp. 87–95. DOI: 10.1097/RLI.0000000000000414
76. Ntorkou A., Tsili A.C., Astrakas L., Goussia A., Panopoulou E. et al. In vivo biochemical investigation of spermatogenic status: 1H-MR spectroscopy of testes with nonobstructive azoospermia. *Eur Radiol.* 2020, V. 30, no. 8, pp. 4284–4294. DOI: 10.1007/s00330-020-06767-z
77. Yudovskii S.O., Zolotukhina A.A., Guryleva A.V., Machikhin A.S., Reshetov L.V. Spectroscopy of testicular tissues as a Tool for azoospermia visualization during Micro-TESE and IVF: a feasibility study. *Scientific Visualization.* 2023, V. 15, no. 5, pp. 9–17. DOI: 10.26583/sv.15.5.02
78. Capraro G.A., Mader T.J., Coughlin B.F., Smithline H. et al. Feasibility of using near-infrared spectroscopy to diagnose testicular torsion: An experimental study in seep. *Ann Emer Med.* 2007, V. 49, no. 4, pp. 520–525. DOI: 10.1016/j.annemergmed.2006.06.041
79. Uncu A.Y., Sekerci C.A., Yucel S., Sircan-Kucuksayan A., Cam H.K., Savas M. et al. Diagnosis of testicular torsion and differentiation from other pathologies using near-infrared spectroscopy. *Urology.* 2023, V. 173, pp. 159–163. DOI: 10.1016/j.urology.2023.01.004
80. Сильверстейн Р., Вебстер Ф., Кимл Д. Спектрометрическая идентификация органических соединений. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2012. 557 с.
81. 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.
82. Uche L.T., Gooris G.S., Bouwstra J.A., Beddoes Ch.M. Increased levels of short-chain ceramides modify the lipid organization and reduce the lipid barrier of skin model membranes. *Langmuir.* 2021, V. 37, no. 31, pp. 9478–9489. DOI: 10.1021/acs.langmuir.1c01295
83. 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
84. 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
85. 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

References

1. Nishlag E., Bere G.M. Andrology. Men's health and dysfunction of the reproductive system. Moscow, Medical Information Agency Publ., 2005, 554 p. (In Russian)
2. Khairutdinov K.N., Sitdykova M.E., Zubkov A.Y. Male infertility is the problem of the XXI century. *Practical Medicine.* 2018, V. 16, no. 6, pp. 185–189. (In Russian)
3. Auger J., Eustache F., Chevrier C., Jégou B. Spatiotemporal trends in human semen quality. *Nat. Rev. Urol.* 2022, V. 19, no. 10, pp. 597–626. DOI: 10.1038/s41585-022-00626-w
4. Agarwal A., Mulgund A., Hamada A., Chyatte M.R. A unique view on male infertility around the globe. *Reprod Biol Endocrinol.* 2015, V. 13, article 37. DOI: 10.1186/s12958-015-0032-1
5. Wang Ch., Mbizvo M., 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, no. 2, pp. 237–245. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2021.11.037
6. Danilov V.V., Lelchuk S.A. Quantitative assessment of spermograms in men based on an interval scale. *Andrology and Genital Surgery.* 2013, no. 1, pp. 44–48. (In Russian)
7. Lefievre L., Bedu-Addo K., Conner S.J., et al. Counting sperm does not add up any more: time for a new equation? *Reproduction.* 2007, V. 133, no. 4, pp. 675–684. DOI: 10.1530/REP-06-0332
8. Björndahl L., Haugen T.B. Hva forteller en sædanalyse? [The information contained in a semen analysis]. *Tidsskr Nor Legeforen.* 2008, V. 128, no. 3, pp. 320–323. (In Norwegian)

9. 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: 10.21886/2308-6424-2023-11-1-171-176. (In Russian)
10. WHO Guidelines for the study and treatment of human ejaculate. *Medical and Genetic Scientific Center of the Russian Academy of Medical Sciences*. Moscow, Kapitalprint Publ., 2012. 305 p. (In Russian)
11. Rocher L., Criton A., Gennisson J., Izard V., Ferlicot S. et al. Testicular shear wave elastography in normal and infertile men: A prospective study on 601 patients. *Ultrasound Med Biol*. 2017, V. 43, no. 4, pp. 782–789. DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2016.11.016
12. Mallidis C., Sanchez V., Wistuba J., Wuebbeling F., Burger M., Fallnich C., Schlatt S. Raman microspectroscopy: shining a new light on reproductive medicine. *Hum Reprod Update*. 2014, V. 20, no. 3, pp. 403–414. DOI: 10.1093/humupd/dmt055
13. 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, no. 11, article 110501. DOI: 10.1117/1.3650310
14. Hesham Said A., Ragab A., Zohdy W., Ibrahim A.S., Abd El Basset A.S. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging and magnetic resonance spectroscopy for non-invasive characterization of azoospermia: A prospective comparative single-center study. *Andrology*. 2023, V. 11, no. 6, pp. 1096–1106. DOI: 10.1111/andr.13392
15. Storey P., Gonen O., Rosenkrantz A.B., Khurana K.K., Zhao T., Bhatta R., Alukal J.P. Quantitative proton spectroscopy of the testes at 3 T: Toward a noninvasive biomarker of spermatogenesis. *Invest Radiol*. 2018, V. 53, no. 2, pp. 87–95. DOI: 10.1097/RLI.0000000000000414
16. 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, no. 3, pp. 309–313. DOI: 10.1366/000370207780220804
17. 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, no. 1, article 106810. DOI: 10.1016/j.microc.2021.106810
18. 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, no. 1, pp. 73–80. DOI: 10.1007/s00414-020-02367-0
19. 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, no. 3, pp. 430–441. DOI: 10.1111/andr.12166
20. Galimov S.N. Mitochondrial dysfunction of spermatozoa in the pathogenesis of male infertility: molecular and genetic aspects. Extended abstract of candidate's thesis. Moscow, 2024, 24 p. (In Russian)
21. Galimov S.N., Gromenko Yu.Yu., Galimova E.F., Bodrova E.S., Bulygin K.V., Litvitsky P.F. Molecular mechanisms of male infertility: main directions of scientific research. *Urologiia*. 2022, no. 4, pp. 114–117. DOI: <https://dx.doi.org/10.18565/urology.2022.4.114-117> (In Russian)
22. Baskaran S., Agarwal A., Leisegang K., Pushparaj P.N., Panner Selvam M.K., Henkel R. An in-depth bibliometric analysis and current perspective on male infertility research. *World J Mens Health*. 2021, V. 39, no. 2, pp. 302–314. DOI: 10.5534/wjmh.180114
23. 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. *Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 2019, V. 64, no. 8, pp. 469–476. DOI: 10.18821/0869-2084-2019-64-8-469-476. (In Russian)
24. Lombo M., Ruiz-Díaz S., Gutiérrez-Adán A., Sánchez-Calabuig M.-J. Sperm metabolomics through nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Animals* (Basel). 2021, V. 11, no. 6, article 1669. DOI: 10.3390/ani11061669
25. Cannarella R., Condorelli R.A., Mongioi L.M., La Vignera S., Calogero A.E. Molecular biology of spermatogenesis: Novel targets of apparently idiopathic male infertility. *Int J Mol Sci*. 2020, V. 21, no. 5, article 1728. DOI: 10.3390/ijms21051728
26. Kumar V., Hassan M.I., Tomar A.K., Kashav T., Nautiyal J., Singh S., Singh T.P., Yadav S. Proteomic analysis of heparin-binding proteins from human seminal plasma: a step towards identification of molecular markers of male fertility. *J Biosci*. 2009, V. 34, no. 6, pp. 899–908. DOI: 10.1007/s12038-009-0104-5
27. Wilson K., Walker J. (Eds.) *Principles and techniques of biochemistry and molecular biology*. Cambridge University Press. 6th edition. 2005, 802 p. DOI: 10.1017/CBO9780511813412
28. Lutsky D.L., Nikolaev A.A., Lozhkina L.V. Protein spectrum of ejaculates of various fertility. *Urologiia i Nefrologiia*. 1998, no. 2, pp. 48–52. (In Russian)
29. Barzani Y., Agarwal A., Sabanegh E. Functional sperm testing and the role of proteomics in the evaluation of male infertility. *Urology*. 2014, V. 84, no. 2, pp. 255–261. DOI: 10.1016/j.urology.2014.04.043
30. Naglot S., Tomar A.K., Singh N., Yadav S. Label-free proteomics of spermatozoa identifies candidate protein markers of idiopathic recurrent pregnancy loss. *Reprod Biol*. 2021, V. 21, no. 3, article 100539. DOI: 10.1016/j.repbio.2021.100539
31. Abramovich A., Shulzinger A. Diagnostic and analysis of human sperm characteristics using fourier transform infrared spectroscopy. *Open Journal of Urology*. 2015, V. 5, no. 6, pp. 97–101. DOI: 10.4236/oju.2015.56015

32. Sharma S., Singh R. Detection and discrimination of seminal fluid using attenuated total reflectance Fourier transform infrared (ATR FT-IR) spectroscopy combined with chemometrics. *Int J Legal Med.* 2020, V. 134, no. 2, pp. 411–432. DOI: 10.1007/s00414-019-02222-x
33. Cao X., Cui Y., Zhang X., Lou J., Zhou J., Bei H., Wei R. Proteomic profile of human spermatozoa in healthy and asthenozoospermic individuals. *Reprod Biol Endocrinol.* 2018, V. 16, no. 1, article 16. DOI: 10.1186/s12958-018-0334-1
34. Correnti S., Preianò M., Fregola A., Gamboni F., Stephenson D., Savino R., D'Alessandro A., Terracciano R. Seminal plasma untargeted metabolomic and lipidomic profiling for the identification of a novel panel of biomarkers and therapeutic targets related to male infertility. *Front Pharmacol.* 2023. V. 14, article 1275832. DOI: 10.3389/fphar.2023.1275832
35. Chhikara N., Tomar A.K., Datta S.K., Yadav S. Proteomic changes in human spermatozoa during in vitro capacitation and acrosome reaction in normozoospermia and asthenozoospermia. *Andrology.* 2023, V. 11, no. 1, pp. 73–85. DOI: 10.1111/andr.13289
36. Saraswat M., Joenvaara S., Jain T., Tomar A.K., Sinha A., Singh S., Yadav S., Renkonen R. Human spermatozoa quantitative proteomic signature classifies normo- and asthenozoospermia. *Mol Cell Proteomics.* 2017, V. 16, no. 1, pp. 57–72. DOI: 10.1074/mcp.M116.061028
37. Tomar A.K., Saraswat M., Chhikara N., Kumar S., Yadav V.K., Sooch B.S. et al. Differential proteomics of sperm: insights, challenges and future prospects. *Biomark Med.* 2010, V. 4, no. 6, pp. 905–910. DOI: 10.2217/bmm.10.100
38. 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)
39. 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, no. 1, article 105. DOI: 10.1186/s12958-021-00792-3
40. Cheng X., Xie H., Xiong Y., Sun P., Xue Y., Li K. Lipidomics profiles of human spermatozoa: insights into capacitation and acrosome reaction using UPLC-MS-based approach. *Front Endocrinol. (Lausanne).* 2023, V. 14, article 1273878. DOI: 10.3389/fendo.2023.1273878
41. Suhaiman L., Belmonte S.A. Lipid remodeling in acrosome exocytosis: unraveling key players in the human sperm. *Front Cell Dev Biol.* 2024, V. 12, article 1457638. DOI: 10.3389/fcell.2024.1457638
42. Casares D., Escriba P.V., Rossello C.A. Membrane lipid composition: Effect on membrane and organelle structure, function and compartmentalization and therapeutic avenues. *Int J Mol Sci.* 2019, V. 20, no. 9, article 2167. DOI: 10.3390/ijms20092167
43. Titov V.N. The phylogenetic theory of general pathology. The development of seven biological functions, seven biological functions, seven specific ones and etiological factors of metabolic epidemics, millions years' common pathogenesis and basics of prevention. *Russian Clinical Laboratory Diagnostics.* 2017, V. 62, no. 8, pp. 452–462. (In Russian)
44. Gamidov S. I., Shatylo T. V., Tambiev A.Kh., Tokareva A. O., Chagovets V. V., Bitsoev T. B., Starodubtseva N. L., Popova A.Yu., Frankevich V. E. Lipidomic profile of seminal plasma in non-obstructive azoospermia with sperm maturation arrest. *Vestn. Urol.* 2021, V. 9, no. 4, pp. 30–39. DOI: 10.21886/2308-6424-2021-9-4-30-39. (In Russian)
45. Craig L.B., Brush R.S., Sullivan M.T., Zavy M.T., Agbaga M.P., Anderson R.E. Decreased very long chain polyunsaturated fatty acids in sperm correlates with sperm quantity and quality. *J Assist Reprod Genet.* 2019, V. 36, no. 7, pp. 1379–1385. DOI: 10.1007/s10815-019-01464-3
46. Lenzi A., Gandini L., Maresca V., Rago R., Sgro P., Dondero F., Picardo M. Fatty acid composition of spermatozoa and immature germ cells. *Mol Hum Reprod.* 2000, V. 6, no. 3, pp. 226–231. DOI: 10.1093/molehr/6.3.226
47. Aksoy Y., Aksoy H., Altinkaynak K., Aydın H.R., Ozkan A. Sperm fatty acid composition in subfertile men. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2006, V. 75, no. 2, pp. 75–79. DOI: 10.1016/j.plefa.2006.06.002
48. Zalata A., Christophe A.B., Depuydt C.E., Schoonjans F., Comhaire F.H. The fatty acid composition of phospholipids of spermatozoa from infertile patients. *Mol Hum Reprod.* 1998, V. 4, no. 2, pp. 111–118. DOI: 10.1093/molehr/4.2.111
49. Zerbinati C., Caponecchia L., Rago R., Leoncini E., Bottaccioli A.G. et al. Fatty acids profiling reveals potential candidate markers of semen quality. *Andrology.* 2016, V. 4, no 6, pp. 1094–1101. DOI: 10.1111/andr.12236
50. 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, no. 22, article 8659. DOI: 10.3390/ijms21228659
51. Tecle E., Gagneux P. Sugar-coated sperm: Unraveling the functions of the mammalian sperm glycocalyx. *Mol Reprod Dev.* 2015, V. 82, no. 9, pp. 635–650. DOI: 10.1002/mrd.22500
52. Schröter S., Osterhoff C., McArdle W., Ivell R. The glycocalyx of the sperm surface. *Hum Reprod Update.* 1999, V. 5, no. 4, pp. 302–313. DOI: 10.1093/humupd/5.4.302
53. Sataeva T.P., Kovalchuk A.V., Kutya S.A. The sperm life cycle. Physiology and pathology. *Krymskii Zhurnal Eksperimental'noi i Klinicheskoi Meditsiny.* 2018, V. 8, no. 1, pp. 113–122. (In Russian)
54. Blawut B., Wolfe B., Premanandan C., Schuenemann G., Ludsins S.A., Liu S.L., et al. Effects of activation and assisted reproduction techniques on the composition, structure, and properties of the sauger (*Sander Canadensis*) spermatozoa plasma membrane. *Theriogenology.* 2023, V. 198, pp. 87–99. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2022.12.021

55. Xin A.J., Wu Y.C., Lu H., Cheng L., Gu Y.H., Diao H., Chen G.W., et al. Comparative analysis of human sperm glycocalyx from different freezability ejaculates by lectin microarray and identification of ABA as sperm freezability biomarker. *Clin Proteomics*. 2018, V. 15, article 19. DOI: 10.1186/s12014-018-9195-z
56. Varki A., Cummings R.D., Esko J.D., Freeze H.H., Hart G.W., Etzler M.E. (Eds.) *Essentials of Glycobiology*. NY, Cold Spring Harbor Laboratory Press. 2008. 784 p.
57. Taylor M.E., Drickamer K. *Introduction to Glycobiology*. Oxford–New York, Oxford University Press. 2011, 304 p.
58. Luo M., Su T., Cheng Q., Zhang X., Cai F., Yin Z., Li F., Yang H., et al. GlycoTCFM: Glycoproteomics based on two complementary fragmentation methods reveals distinctive o-glycosylation in human sperm and seminal plasma. *J Proteome Res*. 2023, V. 22, no. 12, pp. 3833–3842. DOI: 10.1021/acs.jproteome.3c00489
59. Lan R., Xin M., Hao Z., You S., Xu Y., Wu J., Dang L., Zhang X., Sun S. Biological functions and large-scale profiling of protein glycosylation in human semen. *J Proteome Res*. 2020, V. 19, no. 10, pp. 3877–3889. DOI: 10.1021/acs.jproteome.9b00795
60. Clark G.F. The role of carbohydrate recognition during human sperm-egg binding. *Hum Reprod*. 2013, V. 28, no. 3, pp. 566–577. DOI: 10.1093/humrep/des447
61. Walsh Ch.T. *Posttranslational modification of proteins: Expanding nature's inventory*. Englewood, Colo. : Roberts and Co. Publishers. 2006, 490 p.
62. Lukyanov P.A., Zhuravleva N.V. The current glycobiology and medicine. *Vestnik of the Far East Branch of the Russian Academy of Sciences*. 2004, no. 3, pp. 24–34. (In Russian)
63. Purohit S., Laloraya M., Kumar P.G. Distribution of N- and O-linked oligosaccharides on surface of spermatozoa from normal and infertile subjects. *Andrologia*. 2008, V. 40, no. 1, pp. 7–12. DOI: 10.1111/j.1439-0272.2008.00801.x
64. Xin M., Xu Y., You S., Li C., Zhu B., Shen J., Chen Z. et al. Precision structural interpretation of site-specific n-glycans in seminal plasma. *J Proteome Res*. 2022, V. 21, no. 7, pp. 1664–1674. DOI: 10.1021/acs.jproteome.2c00046
65. Lavery S.B., Steentoft C., Halim A., Narimatsu Y., Clausen H., Vakhrušev S.Y. Advances in mass spectrometry driven O-glycoproteomics. *Biochim Biophys Acta*. 2015, V. 1850, no. 1, pp. 33–42. DOI: 10.1016/j.bbagen.2014.09.026
66. Saraswat M., Joenvaara S., Tomar A.K., Singh S., Yadav S., Renkonen R. N-glycoproteomics of human seminal plasma glycoproteins. *J Proteome Res*. 2016, V. 15, no. 3, pp. 991–1001. DOI: 10.1021/acs.jproteome.5b01069
67. Ansari N.A., Rashid Z. Non-enzymatic glycation of proteins: from diabetes to cancer. *Biomeditsinskaya Khimiya*. 2010, V. 56, no. 2, pp. 168–178. (In Russian)
68. Harmaza Yu.M., Migun D.S., Tamashevski A.V. Glycosated proteins as diagnostic and treatment tools of cancer diseases. *News of Biomedical Sciences*. 2023, V. 23, no. 2, pp. 98–108. (In Russian)
69. Verbovaya N.I., Lebedeva E.A. The role of glycosylated metabolic products in the formation of vascular complications of diabetes. *Problems of Endocrinology*. 1997, V. 43, no. 1, pp. 43–46. DOI: 10.14341/probl199743143-46. (In Russian)
70. Yang H., Lin Z., Wu B., Xu J., Tao S.C., Zhou S. Deciphering disease through glycan codes: leveraging lectin microarrays for clinical insights. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2024, V. 56, no. 8, pp. 1145–1155. DOI: 10.3724/abbs.2024123
71. 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)
72. Nechiporenko A.P., Sitnikova V.E., Konovalenko A.V., Nechiporenko U.Y. The Fourier method of IR-spectroscopy in the study of ejaculate in normal and oligozoospermia. *Processes and Food Production Equipment*. 2024, no. 3, pp. 36–58. DOI: 10.17586/2310-1164-2024-17-3-36-58. (In Russian)
73. Liu Y., Zhu Y., Li Z. Application of Raman spectroscopy in Andrology: non-invasive analysis of tissue and single cell. Review. *Transl Androl Urol*. 2014, V. 3, no. 1, pp. 125–133. DOI: 10.3978/j.issn.2223-4683.2014.03.01
74. Osterberg E.C., Laudano M.A., Li P.S. Clinical and investigative applications of Raman spectroscopy in Urology and Andrology. *Transl Androl Urol*. 2014, V. 3, no. 1, pp. 84–88. DOI: 10.3978/j.issn.2223-4683.2014.01.02
75. Storey P., Gonen O., Rosenkrantz A.B., Khurana K.K., Zhao T., Bhatta R., Alukal J.P. Quantitative proton spectroscopy of the testes at 3 T: Toward a noninvasive biomarker of spermatogenesis. *Invest Radiol*. 2018, V. 53, no. 2, pp. 87–95. DOI: 10.1097/RLI.0000000000000414
76. Ntorkou A., Tsili A.C., Astrakas L., Goussia A., Panopoulou E. et al. In vivo biochemical investigation of spermatogenic status: 1H-MR spectroscopy of testes with nonobstructive azoospermia. *Eur Radiol*. 2020, V. 30, no. 8, pp. 4284–4294. DOI: 10.1007/s00330-020-06767-z
77. Yudovskii S.O., Zolotukhina A.A., Guryleva A.V., Machikhin A.S., Reshetov L.V. Spectroscopy of testicular tissues as a Tool for azoospermia visualization during Micro-TESE and IVF: a feasibility study. *Scientific Visualization*. 2023, V. 15, no. 5, pp. 9–17. DOI: 10.26583/sv.15.5.02
78. Capraro G.A., Mader T.J., Coughlin B.F., Smithline H. et al. Feasibility of using near-infrared spectroscopy to diagnose testicular torsion: An experimental study in seep. *Ann Emer Med*. 2007, V. 49, no. 4, pp. 520–525. DOI: 10.1016/j.annemergmed.2006.06.041

79. Uncu A.Y., Sekerci C.A., Yucel S., Sircan-Kucuksayan A., Cam H.K., Savas M. et al. Diagnosis of testicular torsion and differentiation from other pathologies using near-infrared spectroscopy. *Urology*. 2023, V. 173, pp. 159–163. DOI: 10.1016/j.urology.2023.01.004
80. Silverstein R., Webster F., Kiml D. Spectrometric identification of organic compounds. Moscow, BINOM Laboratory of Knowledge Publ. 2012. 557 p. (*In Russian*)
81. 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. (*In Russian*)
82. Uche L.T., Gooris G.S., Bouwstra J.A., Beddoes Ch.M. Increased levels of short-chain ceramides modify the lipid organization and reduce the lipid barrier of skin model membranes. *Langmuir*. 2021, V. 37, no. 31, pp. 9478–9489. DOI: 10.1021/acs.langmuir.1c01295
83. Nechiporenko A.P., Sitnikova V.E., Ukraintseva P.I., Nechiporenko U.Y. Optical and transdermal properties of the barrier layer of skin epidermis. *Processes and Food Production Equipment*. 2023, no. 4, pp. 14–28. DOI: 10.17586/2310-1164-2023-16-4-14-28. (*In Russian*)
84. 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. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2021, V. 11, no. 4, pp. 627–641. DOI: 10.21285/2227-2925-2021-11-4-627-641. (*In Russian*)
85. Nechiporenko A.P., Plotnikova L.V., Vezo O.S., Sitnikova V.E. Fournier method of IR-spectroscopy in the study of the anomeric purity of α - and β -forms of crystalline D(+)-glucopyranoses. *Processes and Food Production Equipment*. 2024, no. 1, pp. 25–43. DOI: 10.17586/2310-1164-2024-17-1-25-34. (*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

Information about the authors

Alla P. Nechiporenko, Dr. Sci. (Chem.), Professor
Vera E. Sitnikova, Ph. D. (Chem.), Associate Professor
Andrey V. Konovalenko, Medical Examiner

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

Статья поступила в редакцию 06.04.2025
Одобрена после рецензирования 10.05.2025
Принята к публикации 12.05.2025

The article was submitted 06.04.2025
Approved after reviewing 10.05.2025
Accepted for publication 12.05.2025