

Инфракрасная фурье-спектроскопия в исследовании проявлений патологии сперматозоидов

А. П. Нечипоренко¹, В. Е. Ситникова¹,
У. Ю. Нечипоренко², А. В. Коноваленко³

¹ Национальный исследовательский университет информационных технологий,
механики и оптики,

Российская Федерация, 197101, Санкт-Петербург, Кронверкский пр., 49

² Медицинская лаборатория «Invitro»,

Российская Федерация, 196106, Санкт-Петербург, ул. Благодатная, 18

³ Бюро судебно-медицинской экспертизы,

Российская Федерация, 195067, Санкт-Петербург, Екатерининский пр., 10А

Для цитирования: 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. Вып. 3. С. 233–257. <https://doi.org/10.21638/spbu11.2023.302>

Методами инфракрасной фурье-спектроскопии и спермограмм проведено исследование серии образцов сперматозоидов, выделенных методом центрифугирования из эякулята в норме и с разным типом патологии, с последующей сушкой в течение 12–14 часов при комнатной температуре (20–22 °С) на предметных стеклах. Отмечена высокая информативность метода по исследованию вещественного состава клеток сперматозоидов и пула сопутствующих клеточных форм (клетки эпителия, сперматогенеза, лейкоциты, лецитиновые зерна). Глубина проникновения инфракрасного излучения (2–10 мкм) позволяет оценить суммарное содержание и конфигурационно-конформационные формы протеинов (полосы Амид-I и Амид-II), полипептидов (1572 см⁻¹), углеводных (1100–1000 см⁻¹) и липидных (1236, 1172, 1155 см⁻¹) компонентов, а также наличие пиранозных форм β-глюкозы (835, 770 см⁻¹) и α-фруктозы (777 см⁻¹) во всех частях клетки (головка, шейка, хвост). Показано, что снижение качества сперматозоидов сопровождается снижением содержания фосфолипидов, содержания и качества белковых структур, влияющих на жизнеспособность клетки и ее функциональную способность, а также одновременным ростом содержания полипептидных и углеводных компонентов в составе гликопептидных комплексов. Полученные данные могут быть полезны для совершенствования методик и методов диагностического анализа и лечения на фоне роста мужского фактора в проблеме бесплодных браков.

Ключевые слова: сперматозоиды человека, патология, инфракрасная фурье-спектроскопия.

Введение

За последние 50 лет как в России, так и других странах прослеживается неуклонный рост бесплодных браков, частота которых по данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) составляет 10–15 % от общего числа супружеских пар [1–4]. И сегодня это стало одной из важнейших социальных и медицинских проблем. Материалы ВОЗ и многочисленные публикации андрологов, обращая

внимание на рост в этой проблеме мужского фактора [5–8], отмечают у мужчин с доказанной фертильностью глобальную, хронически прогрессирующую тенденцию к ухудшению качества спермы по всем ее классическим параметрам (уменьшение концентрации и увеличение морфологической патологии сперматозоидов, снижение их жизнеспособности и подвижности).

Как отмечают авторы [9–11], даже при современном уровне развития медицины, с диагностикой причин мужского бесплодия дела обстоят не совсем хорошо: примерно в половине случаев у мужчин в бесплодных парах обнаруживаются отклонения в спермограмме. С каждым годом в развитых странах прослеживается прогрессирующий рост бесплодия в виде азооспермии, олигозооспермии, тератозооспермии, астенозооспермии неизвестной этиологии. Примерно 30–50% диагностируемого мужского бесплодия составляют случаи, причины которых не выяснены и не понятны, когда не удается установить источник негативных показателей в спермограмме. Одной из важных причин расстройства сперматогенеза вплоть до необструктивной азооспермии является эскалация в последние десятилетия аутоиммунного тироидита Хашимото [12–14].

Основу слабых возможностей диагностики ученые видят в том, что мужское бесплодие — многофакторное заболевание, которое может быть результатом самых разных расстройств различных систем под воздействием множества как отдельных внутренних и внешних факторов, так и их сложных и многообразных комплексов, а все учесть очень трудно. Помимо генетических, гормональных, ферментативных, к числу таких факторов, относят психогенные нарушения, инфекционные заболевания, воспаления и травмы половой системы, употребление алкоголя и наркотиков, ожирение, недоедание, недостаток витаминов и пр.

В то же время ученые небезосновательно считают, что прогрессирующему росту бесплодия способствуют ухудшение экологической обстановки по причине вредных выбросов, чрезмерное использование химикатов и т.п., повторяющиеся экономические кризисы и потрясения, негативно влияющие на психику человека, употребление некачественных продуктов и лекарств, содержащих малополезные и даже вредные ингредиенты [15–19]. Однако некоторые авторы [10] считают, что используемые на практике критерии оценки степени поражения мужских половых клеток были разработаны еще в 1970-х гг. и нуждаются в модернизации с более широким привлечением для комплексного исследования современных биохимических и неразрушающих инструментальных методов. Следует отметить, что при биохимическом анализе плазмы эякулята ВОЗ регламентировала определение содержания общего белка, в связи с чем возникает вопрос о достаточности такого обобщающего показателя.

Хорошо известно, что каждая незрелая клетка-предшественник, находящаяся в семенниках, пройдя три фазы — деления-размножения, роста и созревания, на четвертой фазе формируется в сперматозоид [20, 21]. Каждая стадия занимает примерно 16 дней. В результате ядро превращается в головку сперматозоида — носитель наследственной информации, а телом и хвостом его становятся цитоплазма и оболочка клетки-предшественника. Клеточная оболочка сформированного сперматозоида имеет белковое происхождение и, содержа большое количество цистина, является таким же белковым образованием, как и кератин кожи. Цистин, скрепляющий белковые цепи S-S-мостиками, придает оболочке прочность. Два

сократительных белка — спермиозин и флактин, которые имеют сходное строение с актином и миозином мышечной ткани, ответственны за подвижность хвоста и самого сперматозоида в целом.

Сперматозоид, как носитель наследственной информации, — главная часть спермы. Однако, будучи узкоспециализированной клеткой, он не способен к синтезу и накоплению питательных и строительных органических и неорганических веществ [22]. Нормальные условия, необходимые для его жизнеспособности и жизнедеятельности, обеспечивает семенная плазма, являющаяся для мужских половых клеток средой существования. От качества семенной плазмы зависят подвижность и жизнеспособность спермиев. Все питание — кислород, углеводы, аминокислоты, витамины и другие полезные вещества — поступают к созревающим сперматозоидам через цитоплазму поддерживающих клеток Сертоли, являясь не только источниками энергии и участниками обменных процессов, но и пластическим материалом, структурными кирпичиками клеточной оболочки и органов сперматозоида. Поэтому естественно, что недостаточность, а также несбалансированность жизненно важных органических веществ в семенной жидкости являются причиной функциональной и морфологической неполноценности сперматозоидов и бесплодия.

По химическому составу семенная жидкость относится к наиболее сложным жидкостям человеческого организма, представляя собой многокомпонентную смесь различных неорганических и органических веществ (аминокислот, жирных кислот, липидов, углеводов, ферментов, гормонов, витаминов, специфических белковых соединений, макро- и микроэлементов), обмен которых тесно связан между собой. До настоящего времени биохимический состав спермы и происходящие в ней биохимические процессы изучены недостаточно; поэтому истолковать влияние всех изменений в биохимическом составе спермы на ее функциональную способность пока не представляется возможным.

Однако ряд авторов [10], осознавая, что единство функций и структуры клетки является непреложным законом, полагают, что при изучении патологии сперматогенеза нельзя ограничиться функциональным и морфологическим аспектами проблемы, являющимися следствием. Чтобы понять их причины, необходимо также изучать структурные изменения, предопределяемые изменениями в составе и соотношении базовых биохимических компонентов: белков, липидов и углеводов, которые являются основой не только существования и функционирования любой клетки, но и самой возможности ее зарождения.

Сегодня диагностика мужского бесплодия основывается преимущественно на комплексной оценке состояния мужской репродуктивной системы, включающей в себя клинические и лабораторно-диагностические методы [23, 24]. В последние годы появились работы с использованием масс-спектрологии, рамановской и инфракрасной фурье-спектрологии [25–27]. Как считает подавляющее число авторов, ИК-спектрология с преобразованием Фурье, привлекающая все большее внимание и приобретающая все большую популярность, имеет огромную сферу применения в области анализа биологических жидкостей [28, 29], в том числе и эякулята [30–35]. Полученные структурно-функциональные данные, как отмечает В. И. Кулаков с соавт. [8], позволят обозначить вектор в изучении патогенеза, а также разработке адекватных терапевтических подходов лечения и проведении

возможной профилактики. В связи с этим возникает необходимость в обобщении и возможной систематизации имеющихся данных, переоценке прежних результатов в свете современных представлений, а также в освещении новых перспективных направлений и методов исследования. Целью описываемого нами этапа исследования являлась оценка возможностей метода инфракрасной фурье-спектроскопии в изучении сперматозоидов, выделенных из эякулята в норме и с разными формами патологии.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования являлись 27 образцов сперматозоидов, выделенных из произвольно отобранных образцов эякулята мужчин разного возраста в норме, с олигозооспермией и азооспермией. Образец № 1, принятый в качестве образца сравнения, получен с добровольного согласия донора — мужчины 56 лет без вредных привычек, ведущего здоровый образ жизни, занимающегося спортом, практикующего хатха-йогу и ваджроли-мудру.

Исследовались нативный эякулят, сперматозоиды и плазма, разделенные на ультрацентрифуге. После разделения осадок сперматозоидов трехкратно отмывался физраствором от плазмы и отделялся от промывной жидкости центрифугированием. Эякулят и его компоненты наносились на предметные стекла и высушивались воздушно 12–14 часов при комнатной температуре (20–22 °С).

Колебательные спектры (32 скана) высушенных образцов получали на фурье-спектрометре Tensor 37 (Bruker, Германия) с алмазным оптическим элементом, работающим на эффекте нарушенного полного внутреннего отражения в диапазоне волновых чисел 4000–600 см⁻¹. Полученные результаты обрабатывались в программе Origin. Спермограммы образцов эякулята, выполненные в соответствии с нормативными документами ВОЗ [36], предоставлены лабораторией «Хеликс».

Результаты и их обсуждение

На рис. 1 приведены ИК-спектры образца эякулята № 1 и его основных составляющих (плазмы и сперматозоидов). Представленные в двух областях шкалы волновых чисел (3700–2600 и 1750–750 см⁻¹), спектры идеальным образом отвечают ИК-спектрам мышечной ткани животных и ее составляющих (саркоплазматические и миофибриллярные белки, мышечное волокно) и сыворотке крови человека [37, 38]. Первое, на что следует обратить внимание, — это гармоничная близость трех спектров по общей фактуре рисунка, различающегося в основном интенсивностью полос поглощения. Это говорит о том, что по оптическим свойствам общее состояние вещественного состава клеток сперматозоидов (кр. 2) адекватно отражает соответствие вещественному составу эякулята и плазмы.

Как известно [39], в высокочастотной области (3700–2600 см⁻¹) регистрируются валентные асимметричные (3278 см⁻¹) и симметричные (3066 см⁻¹) колебания NH-группировок пептидной связи и колебания СН_n-групп (2983–2820 см⁻¹) всех вещественных составляющих. В области 1750–1500 см⁻¹ полосами Амид-I (1638 см⁻¹) и Амид-II (1540 см⁻¹) проявляют себя С=О-группы пептидной связи, а полосами 1453 и 1393 см⁻¹ — деформационные асимметричные и симметричные колебания СН-группировок аминокислотных остатков белковых компонентов.

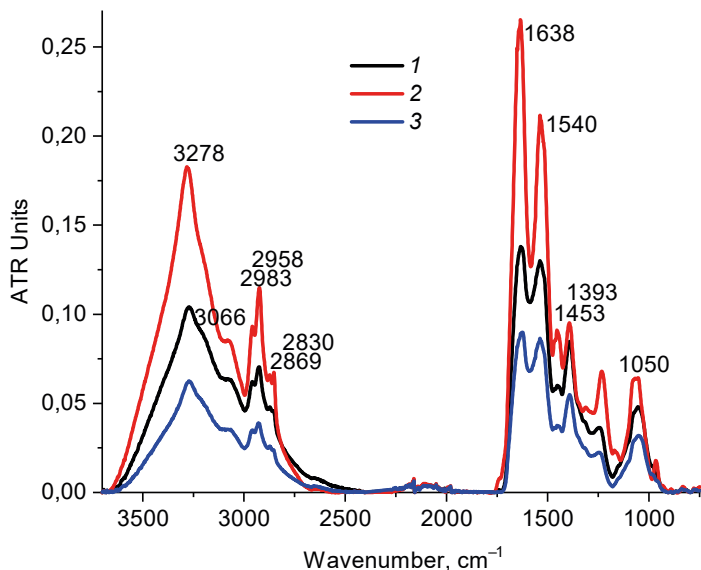


Рис. 1. ИК-спектры эякулята (1), сперматозоидов (2) и плазмы (3) образца № 1

Полоса $1200\text{--}950\text{ см}^{-1}$ принадлежит колебаниям структурных элементов (C-O, C-O-C) циклов углеводных компонентов [37] всех составляющих эякулята, а в низкочастотной области $950\text{--}750\text{ см}^{-1}$ в виде слабых полос могут регистрироваться конформационные структуры пиранозных форм двух моносахаридов — β -глюкопиранозы (770 см^{-1}) и α -фруктопиранозы (777 см^{-1}) [40]. Диапазон $1500\text{--}1200\text{ см}^{-1}$ достаточно сложен для интерпретации, поскольку здесь могут проявляться как валентные, так и деформационные колебания OH, CH, CH₂, C-C и других связей всех компонентов.

Для систематизации всей совокупности спектральных данных, полученных при исследовании произвольно выбранных образцов эякулята, представилось целесообразным рассмотреть на рис. 2 в качестве антипода спектры составных частей образца эякулята с азооспермией № 26 (см. таблицу). Разница в спектральных характеристиках двух образцов позволяет визуализировать одну из основных причин этого различия на вещественном уровне. В спектрах эякулята № 26 и его плазмы отсутствуют обе белковые амидные полосы. В спектре осадка (кр. 2), выделенного при центрифугировании эякулята, их тоже нет.

Однако интенсивные полосы $1578\text{--}1572\text{ см}^{-1}$ говорят о присутствии в эякуляте и плазме большого количества полипептидов [37, 38], подтверждением чему являются и деформированные фрагменты их спектров в высокочастотной области ($3600\text{--}2600\text{ см}^{-1}$). Осадок (кр. 2) центрифугата, являющийся клеточной частью эякулята, в отсутствие сперматозоидов может быть представлен клетками эпителия и клетками сперматогенеза в разных стадиях созревания, которые всегда есть в мужском организме, а также лейкоцитами, лецитиновыми зёрнами [23, 24]. Широкая структурированная полоса с максимумом 1040 см^{-1} в его спектре указывает на преобладание углеводных компонентов.

Некоторые показатели спермограмм и биохимического анализа

№	Объем эякулята, мл	Кол-во сперматозоидов в эякуляте, млн	Доля сперматозоидов, %					Локализация дефекта в клетке, %				Клетка сперматогенеза в поле зрения	Белок, г/л	Тестостерон, моль/л	
			живых	мерт-вых	непод-виз-ных	под-виз-ных	нор-мальных	Голова	Шейка	Хвост					
Группа I															
1	3,0	645	82	18	12	88	78	10	2	10	0	92,00	65,82		
2	8,5	1071	84	16	27	71	12	67	11	10	0	35,45	42,80		
3	4,5	531	33	67	70	30	9	68	8	15	2	48,49	45,68		
4	1,4	140	55	45	47	53	4	68	9	19	1	35,72	55,28		
5	1,6	78,2	69	31	37	63	12	71	3	15	2	40,26	36,12		
6	1,5	190,5	58	42	46	54	3	75	13	9	2	42,32	68,92		
7	3,0	471	54	44	47	53	1	81	9	9	1	26,50	27,38		
8	2,0	190	44	56	57	43	1	81	10	8	2	41,82	23,90		
9	3,5	325,5	71	29	30	70	2	86	9	3	2	33,81	34,18		
Группа II															
10	5,9	431	80	20	21	79	1	72	10	16	1	42,28	26,31		
11	2,3	163,3	41	59	64	36	2	81	8	9	2	34,21	20,42		
12	2,6	499,2	57	43	49	51	3	76	13	8	2	27,42	75,30		
13	4,5	320	70	30	32	68	5	72	9	14	2	61,52	84,56		
14	4,5	225	70	30	32	68	4	63	18	15	1	34,10	84,31		

15	5,0	130	60	40	42	58	1	20	60	19	2	21,80	37,40
16	8,0	208	42	58	72	28	3	77	7	13	2	38,42	28,30
17	1,5	99	65	35	38	62	3	78	12	7	1	65,14	51,43
Группа III													
18	6,2	93	16	84	84	16	1	34	41	24	6	30,46	31,84
19	3,4	64,5	67	33	34	66	5	68	13	14	2	29,16	47,64
20	2,5	297,5	60	40	43	57	16	69	8	7	0	27,20	74,30
21	2,5	20	19	81	81	19	1	62	9	28	1	45,24	8,79
22	2,0	1,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	35,78	12,62
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
Группа IV													
25	3,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	34,07	10,15
26	3,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	26,00	9,42
27	2,2	180	4	96	99	1	6	78	9	7	3	63,18	56,46

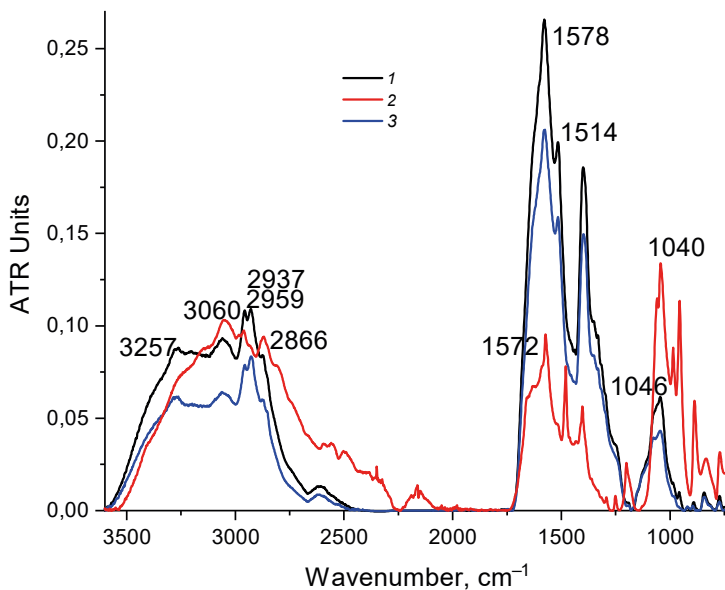


Рис. 2. ИК-спектры составных частей эякулята (1) с азооспермией образца № 26: осадка после отделения центрифугата плазмы (2) и плазмы (3)

Первичный анализ базы спектров всей серии исследованных образцов эякулята, плазмы и сперматозоидов позволил предположить, что лучшим началом в поиске подхода к их пониманию и систематизации могут послужить спектры сперматозоидов. Во-первых, являясь основной и наиболее важной составной частью эякулята, именно они логично могут указать на возможные причины ухудшения собственного качества. Во-вторых, поскольку сперматозоид является самой маленькой клеткой в организме человека (согласно нормативам ВОЗ, общая длина — 55 мкм; головка — приблизительно 5,0 мкм в длину, 3,5 мкм в ширину, 2,5 мкм в высоту; шейка и хвостик — соответственно, примерно 4,5 и 45 мкм в длину), то глубина проникновения ИК-излучения (2–10 мкм) позволяет исследовать суммарное содержание и конфигурационно-конформационные формы протеинов, углеводов, липидов во всех частях клетки. Систематизацию проводили по фактуре белковой области спектров, что позволило всю совокупность исследуемых образцов условно разделить на четыре группы.

Поскольку здоровые мужчины, как правило, такого рода обследования не проходят, значительная разница в оптических характеристиках ряда исследованных образцов по сравнению с образцом № 1, согласно нормативным документам ВОЗ 2012 г., была ожидаема, несмотря на их соответствие норме. Рис. 3 представляет фрагменты ИК-спектров сперматозоидов, отнесенных к группе I. Основанием к отнесению являлось наличие в спектрах обеих полос Амид-I и Амид-II (рис. 3, а), свидетельствующих о наличии в исследуемом материале белковых структур. Однако в ряде рассматриваемых спектров можно отметить смещение, уширение и изменение формы максимума полосы Амид-I при полной стабильности положения полосы Амид-II.

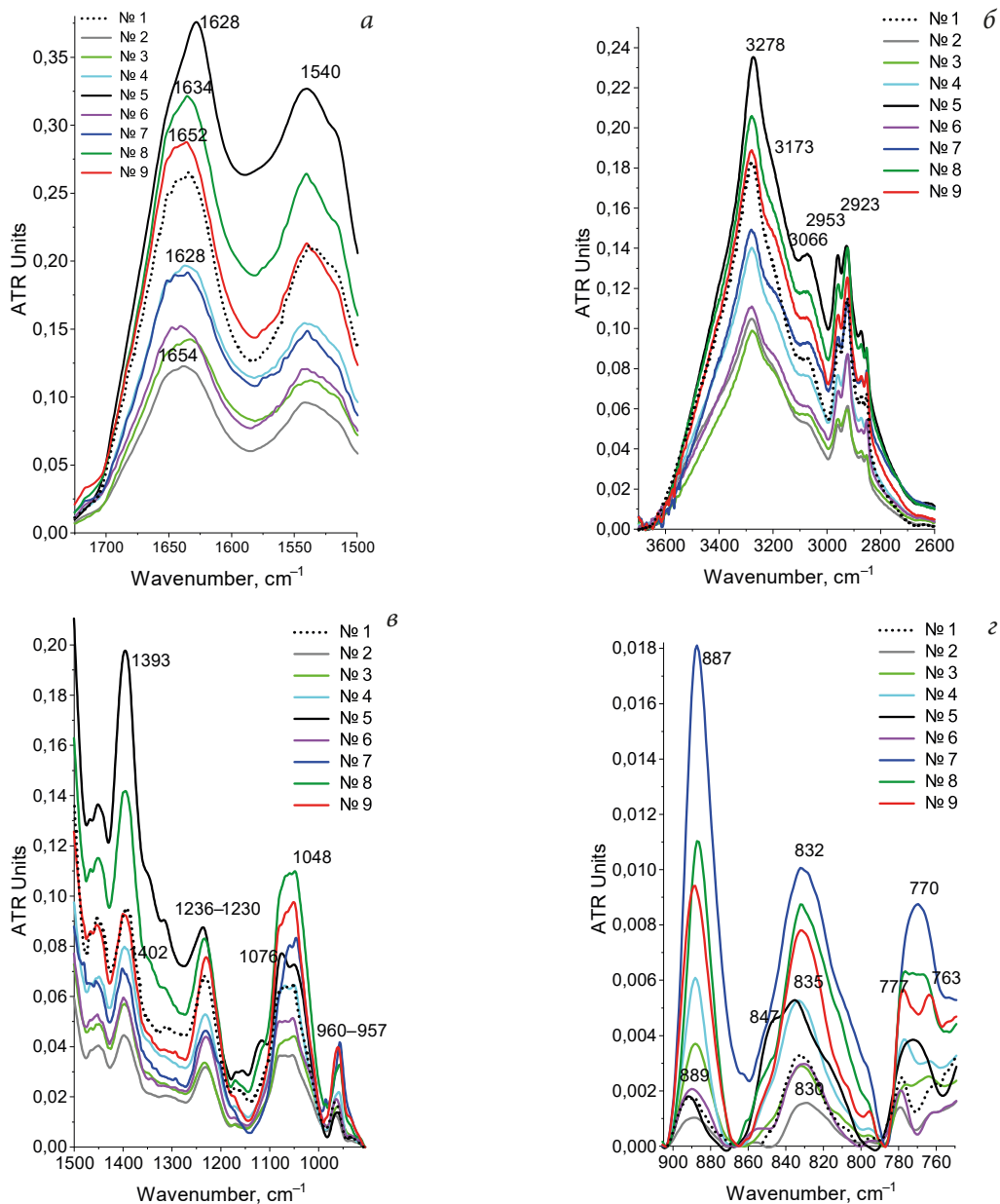


Рис. 3. Фрагменты ИК-спектров сперматозоидов группы I, см⁻¹:
 а) 1750–1500, б) 3650–2600, в) 1500–900, г) 900–750

При остром максимуме полосы 3273 см⁻¹, (рис. 3, б, кр. 1), смещающемся в более высокочастотную область с понижением интенсивности в спектрах остальных образцов, можно обратить внимание на формирование на ее правой ветви выпуклости разной степени проявленности в области 3173 см⁻¹. Заметные различия отмечены в области поглощения углеводных компонентов (рис. 3, в) — полоса 1076–1048 см⁻¹. Варьируется не только фактура, но и последовательность расположения спектраль-

ных кривых, которая отличается от последовательности кривых, представленных на рис. 3, а и б. Это может указывать на разное соотношение содержания белков и углеводов в структуре клетки сперматозоида. Различия в последовательности расположения кривых наблюдается в составе полос 1395, 1236–1230 и 960–957 см^{-1} .

Обращает на себя внимание разброс и на рис. 4, з как по положению полос, так и по их фактуре (780–750 см^{-1}), где характерным образом проявляют себя два моносахарида, играющие важную роль в жизнедеятельности сперматозоидов. Энергетическое обеспечение подвижности клетки на протяжении всего ее жизненного цикла — β -глюкопираноза (770–763 см^{-1}) и α -фруктопираноза (777 см^{-1}) [40], выполняющая специфически важную роль в акросомной реакции при контакте сперматозоида с яйцеклеткой. Широкая структурированная полоса 860–790 см^{-1} с плавающим максимумом (830–835 см^{-1}) говорит о том, что в составе протеин-углеводных комплексов глюкоза присутствует в разных конформациях. Это, в свою очередь, может служить указанием на возможные дефекты и патологию процессов на разных фазах сперматогенеза. Полученные данные позволяют говорить о том, что для клетки данной серии сперматозоидов в большей степени характерны различия в составе и структуре углеводных компонентов при сравнительно стабильном состоянии белковых структур. Соотношение интенсивностей полос A_{1648}/A_{1048} , отражающее соотношение белковых и углеводных компонентов, для образцов группы I составляет 2,30–3,58.

Ко второй группе (рис. 4), определенной как переходная, отнесены образцы сперматозоидов, в спектрах которых наблюдались явно выраженные проявления, указывающие на изменения в белковых структурах, намечавшиеся в спектрах некоторых образцов группы I — появление плеч 1572 см^{-1} на спаде левой ветви полосы Амид-II (рис. 5, а) и 3173 см^{-1} на правой ветви высокочастотной полосы 3278 см^{-1} (рис. 4, б) с уменьшением ее наклона и длины, свидетельствующие об увеличении доли полипептидной составляющей и снижении белковой. В этой группе более явно выражены изменения и в форме полосы Амид-I, позволяющие предполагать заметные изменения в конформационной структуре белка.

Но наиболее примечательна стабилизация полос по фактуре и положению для углеводных компонентов (за исключением образца № 16) во всем диапазоне 1100–750 см^{-1} (рис. 4, в, з), хотя последовательность расположения спектральных кривых в составе полос по-прежнему не соблюдается. Можно отметить (рис. 4, в) появление расширенной структурированной полосы 1236–1230 см^{-1} , достаточно однородной и узкой в спектрах образцов группы I (рис. 4, в), и дифференциацию небольшого максимума 1202 см^{-1} из ее состава, характерного для глюкозы [35], который также не отмечен в спектрах образцов первой группы. Наблюдаемые факты и снижение соотношения интенсивностей полос $A_{1648}/A_{1048} = 1,04 - 1,74$ для данной группы образцов указывают на увеличение негативной роли углеводного фактора в формировании клетки сперматозоидов.

Рассмотрение спектров образцов (рис. 5), отнесенных к группе III, показывает, что все изменения, отмеченные ранее при переходе от группы I к группе II, резко усиливаются в спектрах образцов этой группы. Здесь наиболее заметны изменения в области проявления именно протеиновых компонентов (рис. 5, а). Яркое выраженное варирование формы полосы Амид-I говорит о существенных конформационных перестройках в структуре белка [41, 42].

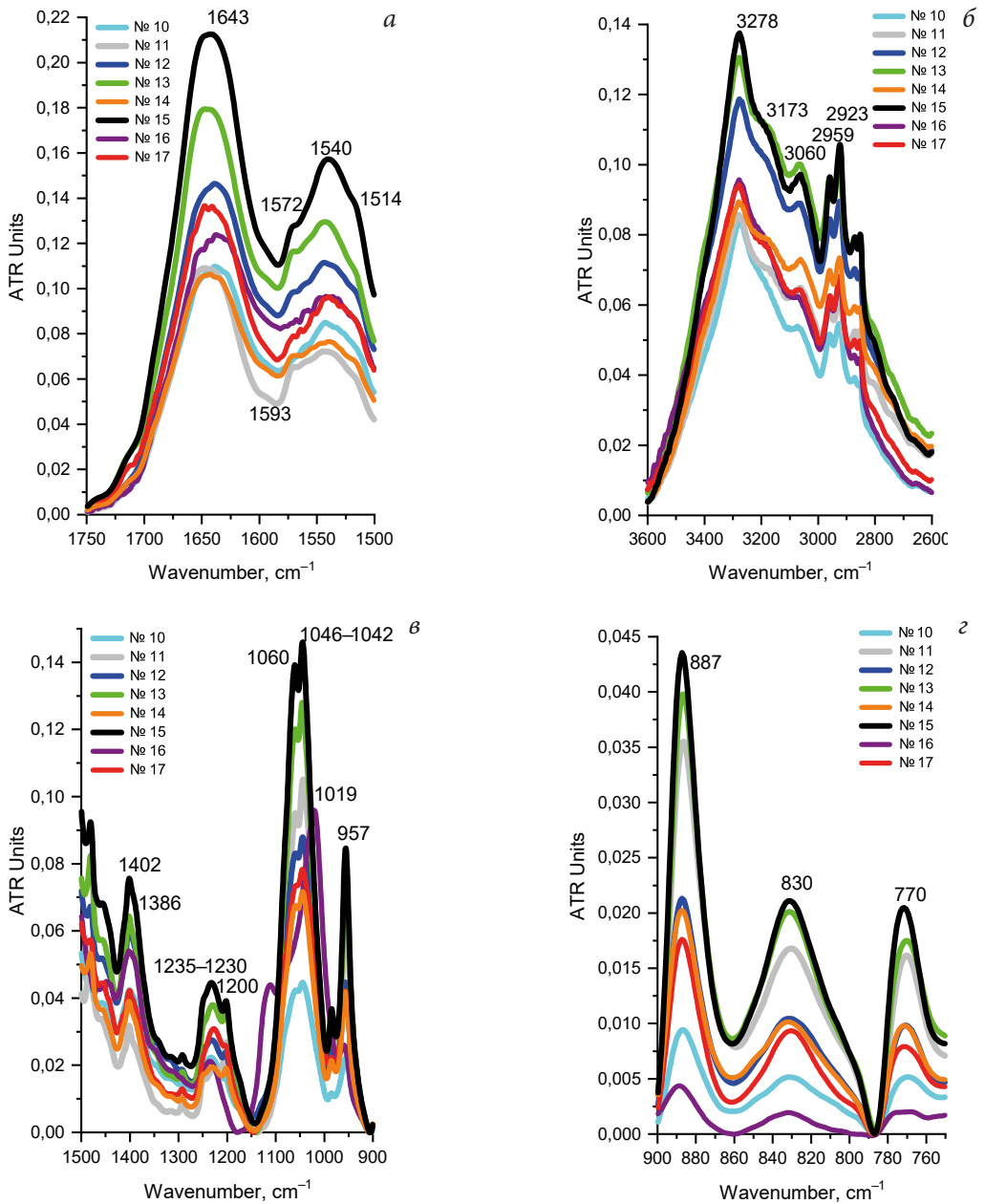


Рис. 4. Фрагменты ИК-спектров сперматозоидов группы II, cm^{-1} :
 а) 1750–1500, б) 3600–2600, в) 1500–900, г) 900–750 cm^{-1}

Резкое увеличение интенсивности полипептидной полосы 1572 cm^{-1} , слабая проявленность в виде плеча полосы Амид-II (1540 cm^{-1}) и деформация высокочастотной полосы (рис. 5, б) также указывают на существенные перемены в качестве белковых структур. Кроме того, обращает на себя внимание формирование новой полосы 1593 cm^{-1} , не наблюдавшейся в образцах группы I и наметившейся в спектрах некоторых образцов

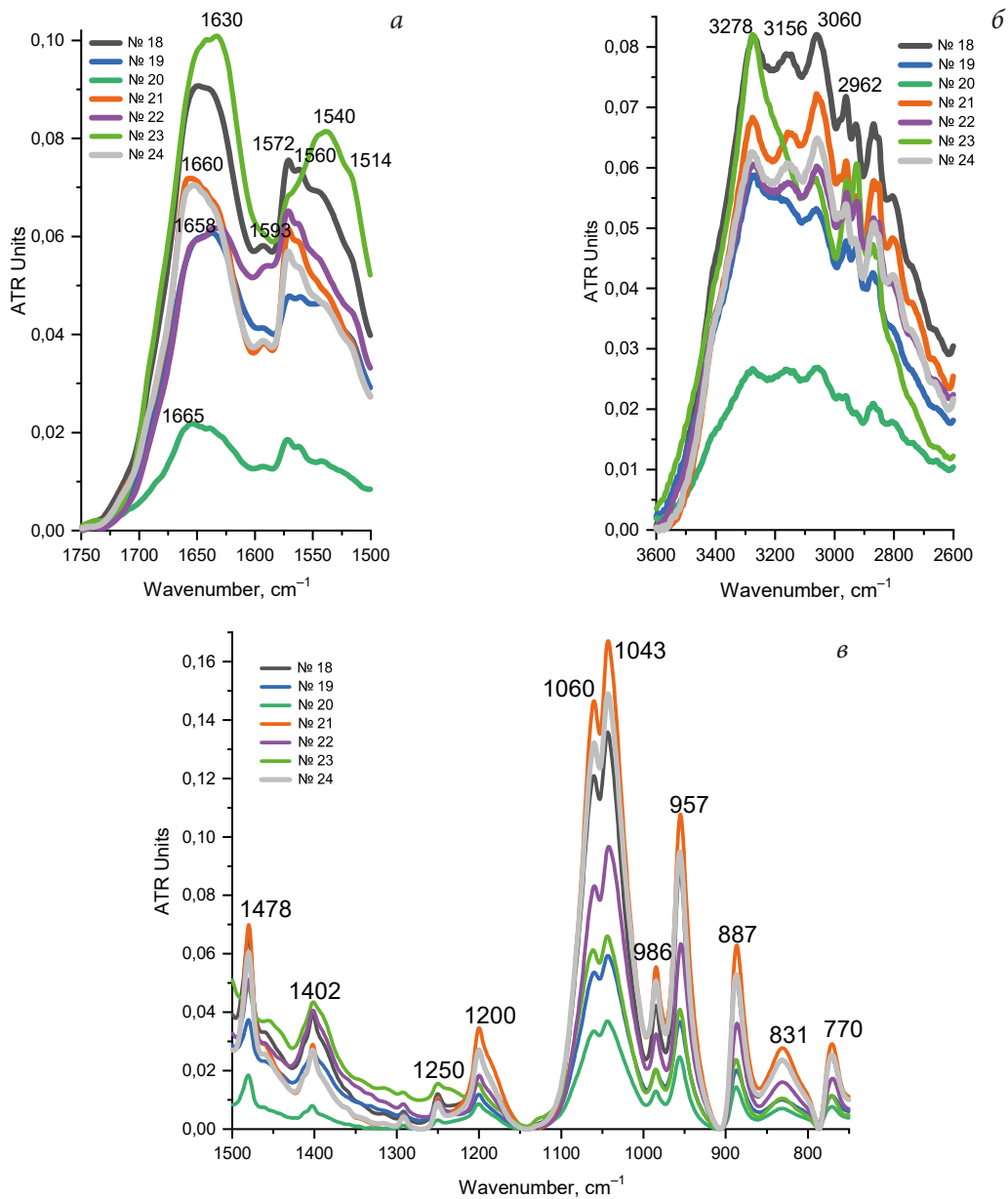


Рис. 5. Фрагменты ИК-спектров сперматозоидов группы III, см⁻¹:
 а) 1750–1500, б) 3600–2600, в) 1500–750

группы II. Есть основание полагать, что таким образом достаточно дифференцированно проявляют себя протеиновые компоненты сопутствующей клеточной части эякулята (за исключением сперматозоидов), количество которых возрастает по мере снижения качества эякулята. При этом не только сохраняется, но и усиливается стабильность фактуры и положения углеводных полос в районе 1150–750 см⁻¹ (рис. 5, з) и завершается дифференциация полос 1250 и 1202 см⁻¹ из состава полосы 1236 см⁻¹.

Следует отметить, что в данную группу полноправно вошли образцы № 21 и 22, отнесенные по показателям спермограмм к категории олигозооспермии. А вот спектр образца № 23, также отнесенного к этой категории, показал, что по качеству белка (рис. 5, а, б) он ближе к группе II. Кроме того, в нем отсутствует полноценная дифференциация полосы 1236 см^{-1} (рис. 5, в). С другой стороны, образцы № 18, 19 и 24 категории «норма» по количеству сперматозоидов (см. таблицу) показали низкое качество белковых структур и включены в группу III. Это позволяет говорить о том, что независимо от количества сперматозоидов в эякуляте клетки существенно различаются как по качеству белка, так и по соотношению белка с полипептидными и углеводными компонентами в пределах одной категории. Соотношение A_{1648}/A_{1048} для образцов группы III существенно ниже, чем в группах I и II, и находится в диапазоне 0,43–1,00.

Рис. 6 иллюстрирует спектры двух образцов с азооспермией — № 25 и 26 (по данным спермограмм), — включенных в группу IV. Малое число образцов не позволяет с достаточной надежностью охарактеризовать группу, но с наибольшей вероятностью ее может представить образец № 26. В его спектре, как уже отмечалось (рис. 2), доминируют полосы углеводных компонентов (рис. 6, в) и полипептидов (рис. 6, а), при полном отсутствии даже более или менее выраженных признаков наличия белковых структур.

Образец № 25 по характеру спектра очень отличается от образца № 26, но близок к спектру образца № 27 (не относящемуся по показателям спермограммы к азооспермии). По спектральным данным условно их можно отнести к переходной подгруппе между группами III и IV по следующим признакам:

— в обоих случаях в спектрах все же присутствуют уширенная структурированная полоса Амид-I, более выраженная в спектре образца № 27, и полоса Амид-II (рис. 6, а) в виде слабо выраженного плеча 1540 см^{-1} ; на наличие белковых структур указывает и фактура полос фрагмента спектров в высокочастотной области (рис. 6, б);

— более низкое содержание углеводных компонентов (рис. 6, в, г) по сравнению с образцом № 26 и еще не дифференцированная полоса 1236 см^{-1} .

Анализируя оптические свойства образцов данной группы, можно сказать, что серьезные нарушения процесса сперматогенеза, отмеченные спермограммой в образцах № 25 и 26, более глубоки во втором случае. В спектре центрифугата осадка образца № 25 полоса 1584 см^{-1} может указывать на значительное содержание клеток сперматогенеза, которые практически отсутствуют в спектре образца № 26. Полоса 1588 см^{-1} в спектре образца № 27 может быть согласована с показателями спермограммы — образец лидирует по доле мертвых клеток среди всей совокупности исследованных образцов, скорее всего находящихся на разных стадиях разрушения (см. таблицу).

Рис. 7 иллюстрирует спектры выборки наиболее типичных образцов сперматозоидов из четырех групп, что позволяет достаточно наглядно проследить общую картину изменения их оптических характеристик при переходе от группы I к группе IV.

1. Наблюдается снижение интенсивности обеих белковых полос Амид-I и Амид-II (рис. 7, а) с деформацией их фактуры и последовательное формирование полосы 1572 см^{-1} , характерной для полипептидных структур. Этот процесс сопровождается падением интенсивности полосы асимметричных валентных колебаний

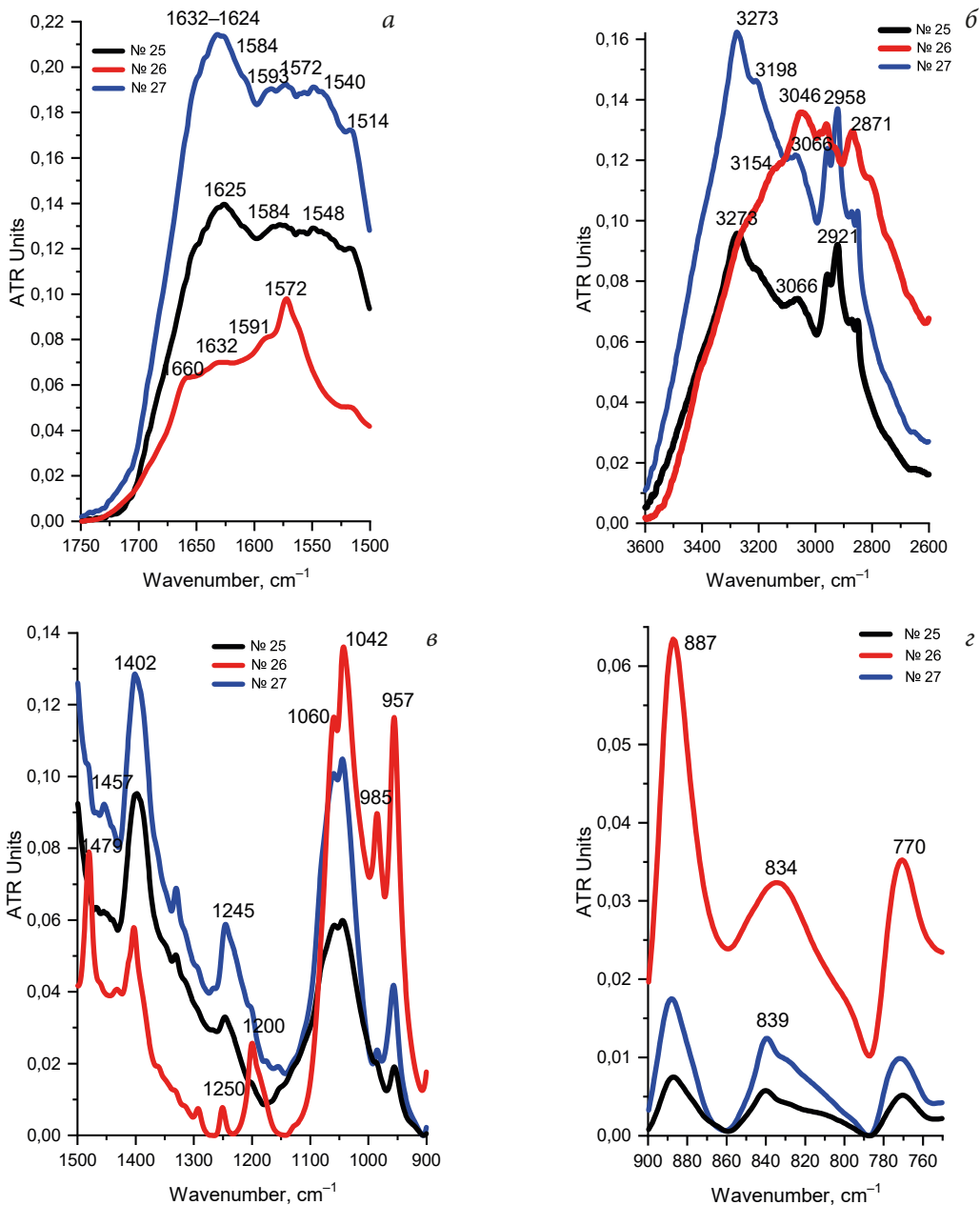


Рис. 6. Фрагменты ИК-спектров сперматозоидов группы IV, см⁻¹
 а) 1750–1500, б) 3600–2600, в) 1500–900, г) 900–750

НН-группировок пептидной связи 3278 см⁻¹ (рис. 7, б) и практически полным ее исчезновением. Отмечено снижение интенсивности полос 1393 и 1468/1453 см⁻¹ (рис. 7, в) со смещением максимумов в положение 1402 и 1482 см⁻¹.

2. В области поглощения углеводных компонентов (рис. 7, в) снижению содержания белка сопутствует увеличение интенсивности углеводной полосы 1060–

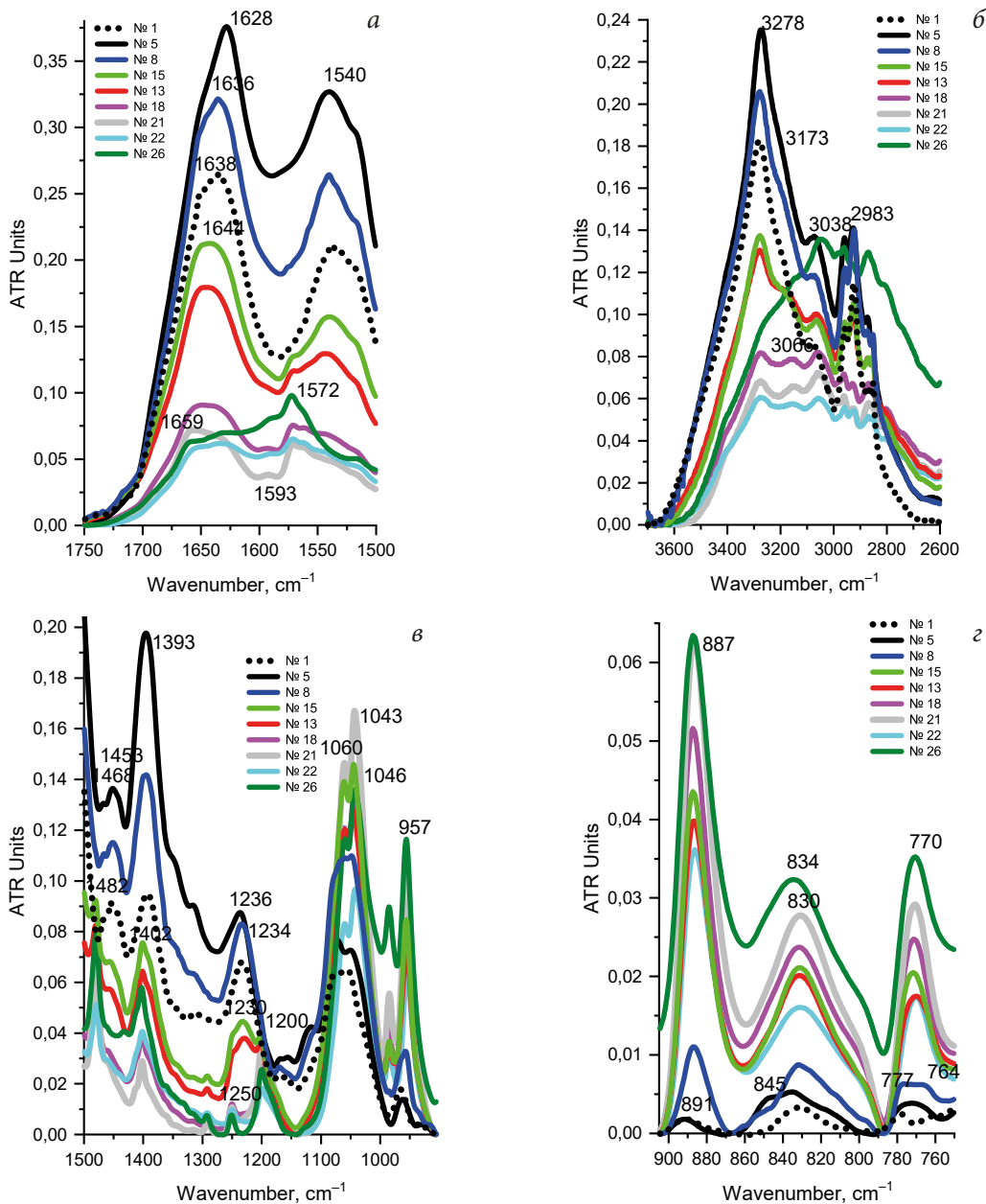
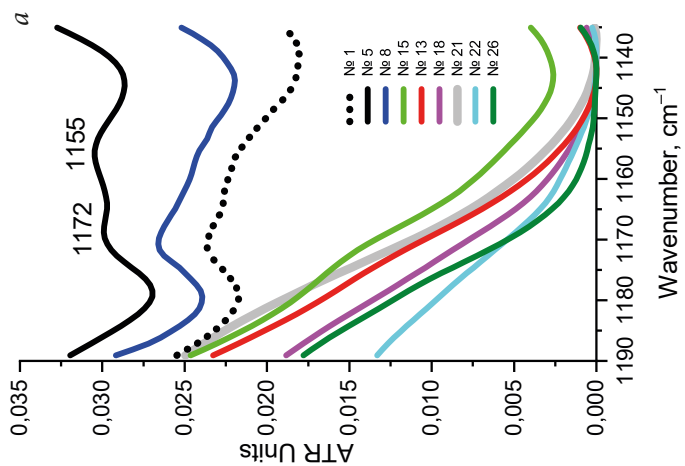
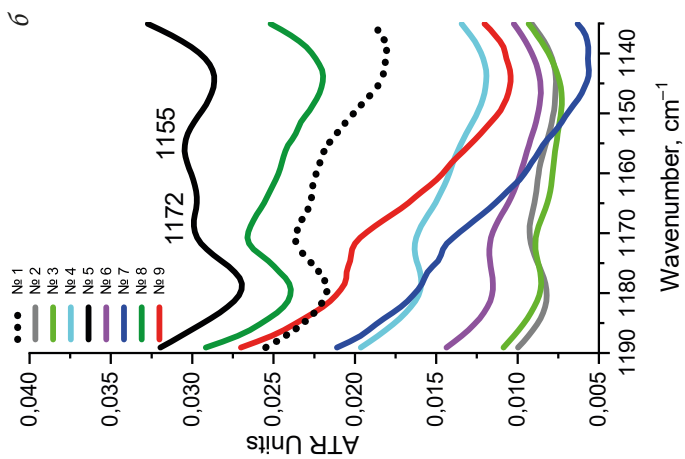
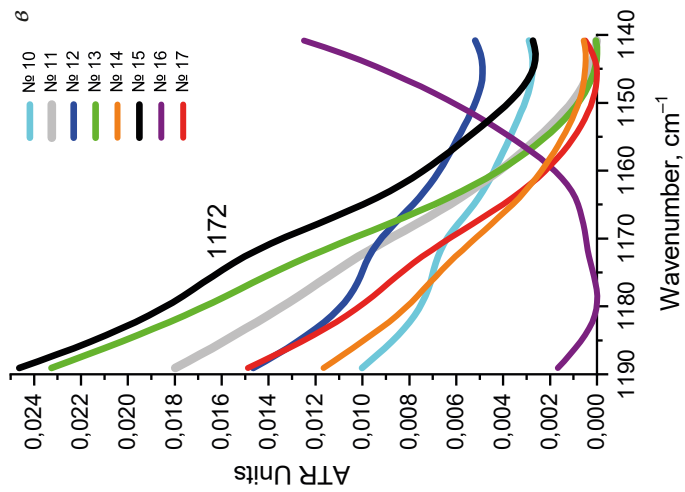


Рис. 7. Фрагменты ИК-спектров сперматозоидов четырех групп, см⁻¹:
 а) 1750–1500, б) 3600–2600, в) 1500–900, г) 900–750

1048 см⁻¹ и стабилизация ее рисунка. Об увеличении содержания глюкозы при снижении качества сперматозоидов говорят растущие полосы 835 и 770 см⁻¹, а на увеличение гликополипептидных структур указывают полосы 957 и 887 см⁻¹ [38].

3. Напротив, с уменьшением содержания белка снижается полоса 1236 см⁻¹ с последующей дифференциацией в спектрах образцов групп III и IV на две — 1250



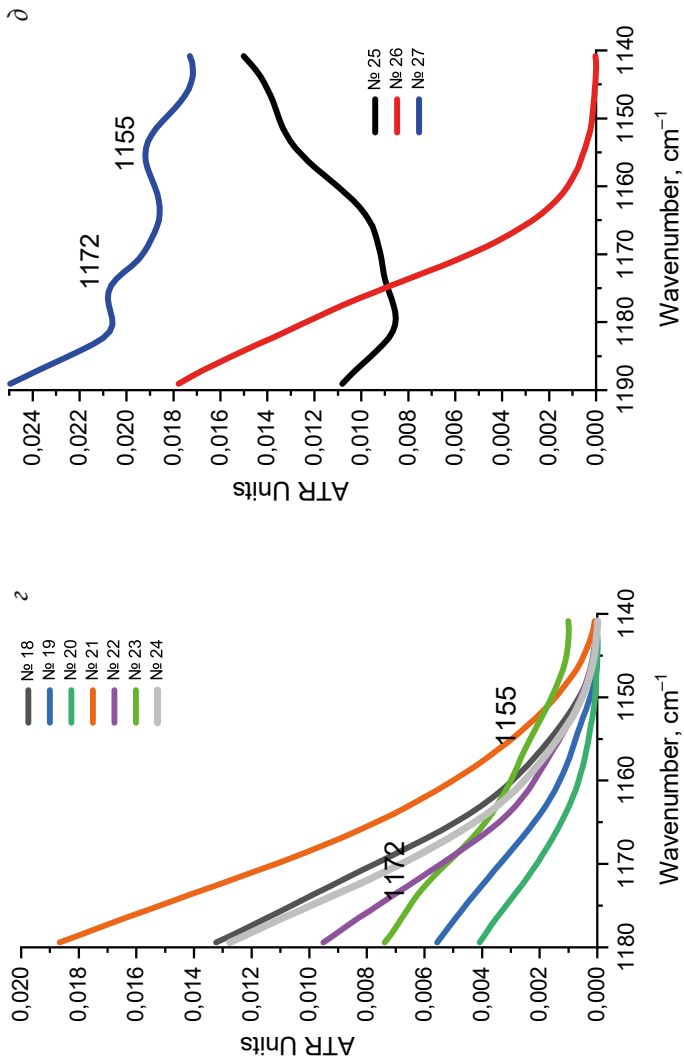


Рис. 8. Фрагменты (1190–1140 cm^{-1}) ИК-спектров сперматозоидов: а) четырех групп, б) группы I, в) группы II, г) группы III, д) группы IV

и 1202 см^{-1} . Если, согласно исследованиям [35, 42, 43], в области 1236 см^{-1} регистрируются асимметричные валентные колебания фосфатных групп, то можно ожидать, что в совокупности данная полоса описывает протеин-гликолипидный комплекс. Характер ее изменения при переходе от группы I к группе III говорит о том, что снижение содержания фосфолипидов в составе клетки сперматозоида приводит к распаду комплекса и формированию индивидуальных полос, обусловленных колебаниями его компонентов — плоскостными деформационными колебаниями NH-групп пептидной связи (1250 см^{-1}) и колебаниями CH_2 -группировок β -пиранозной формы глюкозы (1202 см^{-1}) [40]. К аналогичным выводам пришли авторы, показавшие возможность нарушения фертильности, связанную со снижением в сперматозоидных клетках количества фосфолипидов [44].

Анализ всей совокупности спектров позволил отметить, что метод, определяющий интенсивность и изменение интенсивности полос 1172 и 1150 см^{-1} , характеризующих, соответственно, колебания короткоцепочечных и длинноцепочечных жирных кислот [38, 45], позволяет контролировать липидные компоненты, входящие в структуру оболочки клетки и изменение их содержание при переходе от группы к группе. Как показывает рис. 8, а, жирные кислоты достаточно хорошо регистрируются в спектрах клеток группы I. Их содержание резко снижается уже при переходе к группе II. Рассмотрение спектральных кривых по группам подтверждает наблюдаемую тенденцию (рис. 8, б–г), но при этом позволяет отметить, что наибольший разброс в оптических характеристиках данного участка спектра имеет место именно для образцов первой группы.

На рис. 9 представлены результаты обработки спектров рис. 7 в виде кривых, обобщающих и иллюстрирующих наблюдаемые изменения интенсивности характеристических полос в спектрах сперматозоидов четырех групп. Ось абсцисс — интенсивность полос Амид-I (AI), последовательность точек на кривых отвечает последовательности расположения спектров образцов на рис. 7 и в таблице.

Полученные зависимости наглядно показывают снижение интенсивности полос белковых ($1540, 1393, 3278\text{ см}^{-1}$ — рис. 9, а) и фосфолипидных (1236 см^{-1} — рис. 9, б) структур в составе клеток сперматозоидов при переходе от первой группы к четвертой. Напротив, содержание углеводных ($770, 835, 1043\text{ см}^{-1}$) и гликопептидных ($887, 957\text{ см}^{-1}$) компонентов — рис. 9, в, в рассматриваемых последовательностях образцов во всех случаях растет (на зависимостях рис. 9, б отсутствует образец № 1, выпадающий из них по всем показателям). По области ниже $\text{AI}=0,1$, характеризующей образцы III и IV групп, хорошо видно, что в осадках, полученных при центрифугировании эякулята преобладают гликопептидные компоненты. Изломы на зависимостях в области $\text{AI}=0,2$ могут характеризовать статус группы II как условно переходной, но и могут указывать на возможность проявления индивидуальных для каждого образца факторов, по-разному влияющих на механизм и динамику разрушения белковых структур сперматозоидов и формирования протеин-углеводных комплексов.

Сопоставление полученных спектральных данных с некоторыми показателями спермограмм и биохимического анализа исследованных образцов (см. таблицу) показало лишь общую тенденцию в снижении общего количества и доли живых сперматозоидов, их подвижности и общего белка, а также общую тенденцию в увеличении количества мертвых клеток с переходом от группы I к группе IV, что сопровождается тенденцией к снижению гормона тестостерона.

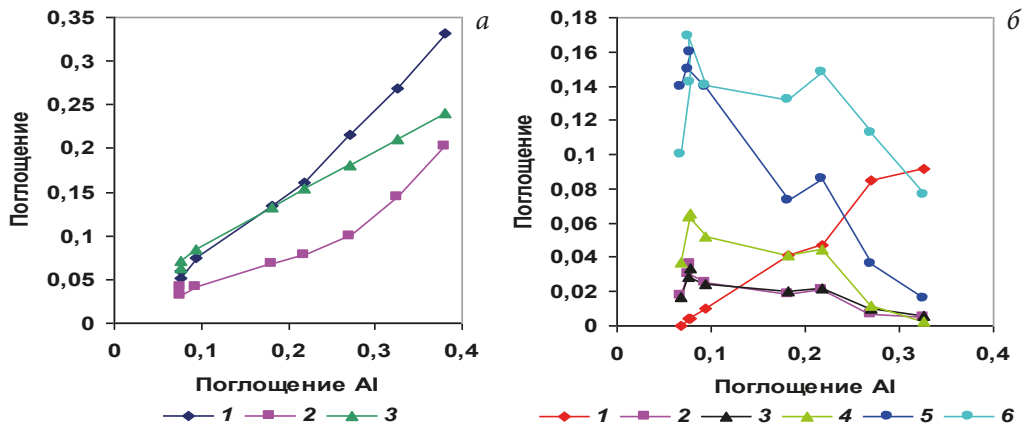


Рис. 9. Изменение интенсивности полос в спектрах сперматозоидов I–IV групп: а) протеины: 1 — 1540, 2 — 1393, 3 — 3278 см^{-1} ; б) фосфолипиды (1 — 1236 см^{-1}); углеводы: 2 — 770, 3 — 835, 6 — 1043 см^{-1} ; гликопротеины: 4 — 887, 5 — 957

Достаточно низкую степень согласованности данных, очевидно, в определенной мере можно объяснить разными физическими основами применяемых методов и их целевым назначением, а также человеческим фактором, вносящим как минимум 10% погрешности [21]. Два основных параметра оценки сперматогенеза, общепринятых сегодня в клинической практике, — это доля подвижных сперматозоидов с поступательным движением и морфологически нормальных сперматозоидов. Они анализируются врачом визуально под микроскопом и оцениваются субъективно, и это происходит без учета возможных погрешностей при получении материала, его подготовке и проведении исследования. Точно так же и в подсчете разных форм дефектов клетки. Кроме того, биохимический показатель содержания общего белка в эякуляте не дает реальной картины по сбалансированности разных категорий протеиновых компонентов — белков и полипептидов с разнообразными и узко специализированными специфическими регуляторными функциями, в том числе и в синтезе белковых структур [46–48].

Метод ИК-спектроскопии, обладающий высокой точностью, чувствительностью, экспрессностью, простотой в выполнении измерений, не требующий специальной пробоподготовки образца, позволяя при минимуме операций (центрифугирование для разделения жидкой и клеточной частей эякулята и последующая их сушка на предметных стеклах в условиях комнатной температуры) исследовать конфигурационно-конформационные изменения основных вещественных составляющих клетки (белки, полипептиды, углеводы, липиды, фосфолипиды и их комплексы), перспективен как самостоятельный метод и как метод в комплексном исследовании причин патологии на всех стадиях сперматогенеза.

Заключение

Исследование методом инфракрасной фурье-спектроскопии серии из 27 образцов сперматозоидов, полученных выделением из эякулята в норме и с разным типом патологии, позволило провести их предварительную систематизацию услов-

ным разделением на четыре группы. Они определялись в зависимости от содержания и качества белковых структур, идентифицированных по фактуре и интенсивности полос Амид-I и Амид-II и характеру спектральной кривой в высокочастотной области шкалы волновых чисел ($3600\text{--}2600\text{ см}^{-1}$). В отличие от стандартного биохимического анализа, дающего результат по содержанию общего белка в спермоплазме, метод позволяет дифференцированно оценивать содержание белковых и полипептидных (1572 см^{-1}) структур как в плазме, так и клетках сперматозоидов.

Отмечено, что снижение содержания фосфолипидов в клетке приводит к снижению качества и содержания белковых структур, а также к увеличению содержания пептид-углеводных компонентов, коррелирующих, по данным спермограмм, со снижением качества, жизнеспособности и функциональной активности сперматозоида. Полученные данные показали эффективность и информативность метода в исследовании вещественного состава клеток сперматозоидов и сопутствующей клеточной части эякулята, что может быть полезно для совершенствования методик диагностического анализа и лечения на фоне роста мужского фактора в проблеме бесплодных браков.

Литература

1. Быков В. Л. Сперматогенез у мужчин в конце XX века (обзор литературы) // Проблемы репродукции. 2000. № 1. С. 10–21.
2. Bancroft J. Male infertility // Brit. Med. J. 2001. Vol. 290. P. 1417–1422.
3. Горпинченко И. И., Стусь В. П., Малышкин Д. И., Полион Н. Ю. Мужское бесплодие: этиология, патогенез, классификация, диагностика и методы лечения. Днепр: Акцент ПП, 2016. 344 с.
4. Murshidi M. M., Choy J. T., Eisenberg M. L. Male Infertility and Somatic Health // Urologic Clinics of North America. 2020. Vol. 47, no. 2. P. 211–217.
5. Зайратьянц О. В., Ковальский Г. Б., Рыбакова М. Г. Медико-демографические показатели. Россия — XX век и начало XXI века // Терапевт: научно-практический ежемесячный журнал. 2007. № 6. С. 40–63.
6. Лебедев Г. С., Шадеркин И. А., Шадеркина В. А., Аполихин 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. 4–12.
7. Гаспаров А. С., Назаренко Т. А. Репродуктивное здоровье. Бесплодие как медико-социальная проблема: практическое руководство. М.: НЦ АГиП РАМН, 2000. 56 с.
8. Кулаков В. И., Серов В. Н., Адамян Л. В. Руководство по охране репродуктивного здоровья. М.: Триада-Х, 2001. 568 с.
9. Хаят С. Ш., Андреева М. В., Шилейко Л. В., Остроумова Т. В., Сорокина Т. М., Мясников Д. А., Черных В. Б., Курило Л. Ф. Анализ параметров эякулята у мужчин с нормальной концентрацией сперматозоидов и полизооспермией // Андрология и генитальная хирургия. 2014. № 1. С. 34–40.
10. Демьяшкин Г. А. Морфологический анализ сперматогенеза — основа диагностики мужского идиопатического бесплодия (иммуногистохимический аспект): дис. ... канд. мед. наук. М.: МГМУ им. Сеченова, 2017. 141 с.
11. Демьяшкин Г. А. Проплиферация и апоптоз мужских половых клеток в сперматогенном эпителии в норме и при азооспермии // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. 2016. Т. 7, № 2. С. 16–32.
12. Chereshnev V. A., Pichugova S. V., Beikin Y. B., Chereshneva M. C., Iukhta A. I., Stroev Y. I., Churilov L. P. Pathogenesis of Autoimmune Male Infertility: Juxtacrine, Paracrine, and Endocrine Dysregulation // Pathophysiology. 2021. Vol. 28, no. 4. P. 471–488.
13. Строев Ю. И., Утехин В. И., Чурилов Л. П. Аутоиммунное бесплодие — роль гиперпролактинемии // Руководство по аутоиммунным заболеваниям для врачей общей практики. СПб.: Медкнига-СПб, 2017. С. 339–351.

14. Юхта А. И., Строев Ю. И., Чурилов Л. П. Репродуктивность у мужчин с тиреозидом хашимото // Здоровье — основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения. 2020. Т. 15, № 1. С. 314–322.
15. Гилмюйден Н. К. Мужской фактор. Почему снижается качество спермы и как остановить этот процесс? М.: Эксмо, 2021. 352 с.
16. 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.: [б. и.], 2016. 48 с.
17. Галимов Ш. Н., Гизатуллин Т. Р., Фархутдинов Р. Р., 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.
18. Охоботов Д. А., Зарайский Е. И., Павлова Г. В., Камалов А. А. Иммунологические факторы бесплодия и антигены сперматозоидов // Медицинские науки. 2007. № 4. С. 31–42.
19. Луцкий Д. Л., Гончарова Л. А., Выборнов С. В., Луцкая А. М., Махмудов Р. М. Влияние химических факторов на состояние мужской репродуктивной системы (обзор литературы) // Проблемы репродукции. 2009. № 6. С. 48–64.
20. Сатаева Т. П., Ковальчук А. В., Кутя С. А. Жизненный цикл сперматозоида // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. 2018. Т. 8, № 1. С. 113–122.
21. Шатохина И. С., Кузнецова В. С. Исследование эякулята. М.: МОНИКИ им. М. Ф. Владимирского, 2014. 20 с.
22. Хеффнер Л. Половая система в норме и патологии. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2003. 124 с.
23. Сагалов А. В. Амбулаторно-поликлиническая андрология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017. 528 с.
24. Björndahl L., Mortimer D., Barratt L. R. Ch., Castilla J. A., Menkveld R., Kvist U., Alvarez J. G., Haugen T. B. A Practical Guide to Basic Laboratory Andrology. Cambridge: Cambridge University Press, 2010. 357 p.
25. Wang G. G., Guo Y. S., Zhou T., Shi X. D., Yu J., Yang Y., Wu Y. B., Wang J., Liu M. X., Chen X., Tu W., Zeng Y., Jiang M., Li S., Zhang P., Zhou Q., Zheng B., Yu Ch., Zhou Z., Guo X., Sha J. In-depth proteomic analysis of the human sperm reveals complex protein compositions // Journal of Proteomics. 2013. No. 79. P. 114–122.
26. Muro C. K., Lednev I. K. Race Differentiation Based on Raman Spectroscopy of Semen Traces for Forensic Purposes // Anal. Chemistry. 2017. Vol. 89, no. 8. P. 4344–4348.
27. Zou P., Xia F., Yang F., Cao K., Ma K., Mi Z., Huang X., Cai N., Jiang B., Zhao X., Liu W., Chen X. Whole blood and semen identification using mid-infrared and Raman spectrum analysis for forensic applications // Anal Methods. 2016. No. 8. P. 3763–3767.
28. Das T., Harshey A., Srivastava A., Nigam K., Kumar Yadav V. K., Sharma K., Sharma A. Analysis of the ex-vivo transformation of semen, saliva and urine as they dry out using ATR-FTIR spectroscopy and chemometric approach // J. Sci. Res. Phar. 2013. Vol. 2, no. 2. P. 18–20.
29. Zapata F., Fernández de la Ossa M. Á., García-Ruiz C. Emerging spectrometric techniques for the forensic analysis of body fluids // TrAC Trends Anal. Chem. 2015. Vol. 64. P. 53–65.
30. Sharma S., Singh R. Detection and discrimination of seminal fluid using attenuated total reflectance Fourier transform infrared (ATR FT-IR) spectroscopy combined with chemometrics // International Journal of Legal Medicine. 2020. Vol. 134, no. 2. P. 411–432.
31. Zha S., Wei X., Fang R., Wang Q., Lin H., Zhang K., Zhang H., Liu R., Li Z., Huang P., Wang Z. Estimation of the age of human semen stains by attenuated total reflection Fourier transform infrared spectroscopy: a preliminary study // Forensic Sci. Res. 2019. Vol. 5, no. 2. P. 119–125.
32. Gregório I., Zapata F., Torre M., García-Ruiz C. Statistical approach for ATR-FTIR screening of semen in sexual evidence // Talanta. 2017. Vol. 174. P. 853–857.
33. Abramovich A., Shulzinger A. Diagnostic and Analysis of Human Sperm Characteristics Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy // Open Journal of Urology. 2015. No. 5. P. 97–101.
34. Das T., Annapoorni A. A., Harshey A., Srivastav A. Vibrational Spectroscopic approaches for semen analysis in forensic investigation: State of the art and way forward // Microchemical Journal. 2021. Vol. 171, no. 1. P. 106810.
35. 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. Vol. 61, no. 3. P. 309–313.

36. Руководство ВОЗ по исследованию и обработке эякулята человека. М.: Капитал Принт, 2012. 305 с.
37. Нечипоренко А. П., Орехова С. М., Ситникова В. Е., Громова М. А., Бушуева А. В., Успенская М. В. Фурье-спектроскопия саркоплазматических, миофибриллярных и соединительнотканых белков мышечной ткани свинины // Научный журнал НИУ ИТМО. Серия «Процессы и аппараты пищевых производств». 2021. Вып. 1 (47). С. 3–14.
38. 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.
39. Сильверштейн Р., Вебстер Ф., Кимл Д. Спектрометрическая идентификация органических соединений. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2012. 557 с.
40. 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, № 4. С. 627–641.
41. Schweitzer-Stenner R. Advances in Vibrational Spectroscopy as a Sensitive Probe of Peptide and Protein Structure: A Critical Review // *Vibrational Spectroscopy*. 2006. No. 42. P. 98–117.
42. Усольцев Д. А., Ситникова В. Е., Носенко Т. Н., Олехнович Р. О., Успенская М. В. Сравнение методик расчета вторичной структуры белков на основе деконволюции инфракрасных спектров // Научно-технический вестник ИТМО. 2019. Т. 19, № 4. С. 586–593.
43. Скурёдина А. А., Тычинина А. С., Ле-Дейген И. М., Белогузова Н. Г., Кудряшова Е. В. Регуляция свойств липидных мембран при взаимодействии С2-гидроксипропил β-циклодекстрином. Молекулярные детали // *Биоорганическая химия*. 2020. Т. 6, № 5. С. 505–516.
44. Антонов М. П., Жигулина В. В. Влияние биохимических изменений липидов сперматозоидов и спермоплазмы на фертильность эякулята // *Верхневолжский медицинский журнал*. 2012. Т. 10, № 3. С. 47–51.
45. Нечипоренко У. Ю., Плотникова Л. В., Мельникова М. И. Липиды, их купажи, масляные экстракты и шроты растительного сырья. Оптические свойства. [Б. г.]: Lambert Academic Publishing, 2019. 149 с.
46. Хавинсон В. Х. Тканеспецифическое действие пептидов // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2001. Т. 132, № 8. С. 228–229.
47. Хавинсон В. Х. Единый механизм пептидной регуляции экспрессии генов и синтеза белков в живой природе // *Вестник Медицинского центра Управления делами Президента Республики Казахстан*. 2017. № 2. С. 13–18.
48. Шатаева Л. К., Хавинсон В. Х., Ряднова И. Ю. Пептидная саморегуляция живых систем (факты и гипотезы). СПб.: Наука, 2003. 222 с.

Статья поступила в редакцию 10 апреля 2023 г.;
рекомендована к печати 19 октября 2023 г.

Контактная информация:

Нечипоренко Алимпида Павловна — д-р хим. наук, проф.; allanech2512@yandex.ru
Ситникова Вера Евгеньевна — канд. хим. наук, доц.; v.e.sitnikova@gmail.com
Нечипоренко Ульяна Юрьевна — врач-лаборант; uechchiporenko@yandex.ru
Коноваленко Андрей Валентинович — врач-судмедэксперт; andrkon1980@mail.ru

Fourier Infrared spectroscopy in the study of manifestations of sperm pathology

A. P. Nechiporenko¹, V. E. Sitnikova¹, U. Yu. Nechiporenko², A. V. Konovalenko³

¹ National Research University of Information Technology, Mechanics and Optic,
49, Kronverksky pr., St. Petersburg, 197101, Russian Federation

² Medical laboratory “Invitro”,
18, ul. Blagodatnaya, St. Petersburg, 196106, Russian Federation

³ Bureau of Forensic Sciences,
10A, Ekaterininsky pr., St. Petersburg, 195067, Russian Federation

For citation: 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, vol. 18, issue 3, pp. 233–257. <https://doi.org/10.21638/spbu11.2023.302> (In Russian)

Using Fourier IR spectroscopy and spermograms, a series of sperm samples isolated by centrifugation from ejaculate in normal and with different types of pathology, followed by drying for 12–14 hours at room temperature (20–22 °C) on slides, was studied. The high informative value of the method for the study of the material composition of sperm cells and the pool of associated cell forms (epithelial cells, spermatogenesis, leukocytes, lecithin grains) was noted. The depth of IR radiation penetration (2–10 microns), allows us to estimate the total content and configuration-conformational forms of proteins (Amide-I and Amide-II bands), polypeptides (1572 cm⁻¹), carbohydrate (1100–1000 cm⁻¹) and lipid (1236, 1172, 1155 cm⁻¹) components, as well as the presence of pyranose forms of β -glucose (835, 770 cm⁻¹) and α -fructose (777 cm⁻¹) in all parts of the cell (head, neck, tail). It has been shown that a decrease in the quality of spermatozoa is accompanied by a decrease in the content of phospholipids, the content and quality of protein structures affecting the viability of the cell and its functional ability, and a simultaneous increase in the content of polypeptide and carbohydrate components in the composition of glyco-peptide complexes. The data obtained can be useful for improving the methods and methods of diagnostic analysis and treatment against the background of the growth of the male factor in the problem of infertile marriages.

Keywords: human spermatozoa, pathology, Fourier IR spectroscopy.

References

1. Bykov V.L. Spermatogenesis in men at the end of the XX century (literature review). *Russian Journal of Human Reproduction*, 2000, no. 1, pp. 10–21. (In Russian)
2. Bancroft J. Male infertility. *Brit. Med. J.*, 2001, vol. 290, pp. 1417–1422.
3. Gorpinchenko I. I., Stus V. P., Malyshkin D. I., Polion N. Yu. *Male infertility: etiology, pathogenesis, classification, diagnosis and treatment methods*. Dnipro, Aktsent PP Publ., 2016, 344 p.
4. Murshidi M. M., Choi J. T., Eisenberg M. L. Male Infertility and Somatic Health. *Urological Clinics of North America*, 2020, vol. 47, no. 2, pp. 211–217.
5. Zairatiants O. V., Kovalsky G. B. Rybakova M. G. Medical and demographic indicators. Russia — the XX century and the beginning of the XXI century. *Terapevt: nauchno-prakticheskii zhurnal*, 2007, no. 6, pp. 40–63. (In Russian)
6. Lebedev G. S., Shaderkina I. A., Shaderkina V. A., Apolykhin O. A., Sivkov A. V., Komarova V. A. Male infertility in the Russian Federation: statistical data for 2000–2018. *Eksperimental'naiia i klinicheskaia urologiia*, 2019, vol. 4, pp. 4–12. (In Russian)
7. Gasparov A. S., Nazarenko T. A. *Reproductive health. Infertility as a medical and social problem. Practical guide*. Moscow, NC AGiP RAMS Publ., 2000, 56 p. (In Russian)
8. Kulakov V. I., Serov V. N., Adamyan L. V. *Guidelines for the protection of reproductive health*. Moscow, Triad-X Publ., 2001, 568 p. (In Russian)
9. Khayat S. Sh., Andreeva M. V., Shileyko L. V., Ostroumova T. V., Sorokina T. M., Myasnikov D. A., Chernykh V. B., Kurilo L. F. Analysis of ejaculate parameters in men with normal sperm concentration and polyzoospermia. *Andrologiia i genital'naiia khirurgiia*, 2014, no. 1, pp. 34–40. (In Russian)
10. Demyashkin G. A. *Morphological analysis of spermatogenesis is the basis for the diagnosis of male idiopathic infertility (immunohistochemical aspect)*. PhD thesis (Medicine). Moscow, MGIMU im. Sechenova Publ., 2017, 141 p. (In Russian)
11. Demyashkin G. A. Proliferation and apoptosis of male germ cells in spermatogenic epithelium in normal and azoospermia. *Krymskii zhurnal eksperimental'noi i klinicheskoi meditsiny*, 2016, vol. 7, no. 2, pp. 16–32. (In Russian)
12. Chereshevnev V. A., Pichugova S. V., Beikin Y. B., Cheresheva M. C., Iukhta A. I., Stroev Y. I., Churilov L. P. Pathogenesis of Autoimmune Male Infertility: Juxtacrine, Paracrine, and Endocrine Dysregulation. *Pathophysiology*, 2021, vol. 28, no. 4, pp. 471–488.

13. Stroev Yu. I., Utekhin V. I., Churilov L. P. Autoimmune infertility — the role of hyperprolactinemia. *Rukovodstvo po autoimmunnym zabolovaniim dlia vrachei obshchei praktiki*. St. Petersburg, Medkniga-SPb Publ., 2017, pp. 339–351. (In Russian)
14. Yukhta A. I., Stroev Yu. I., Churilov L. P. Reproduction in men with Hashimoto's thyroiditis. *Zdorov'e — osnova chelovecheskogo potentsiala: problemy i puti ikh resheniia*. 2020, vol. 15, no. 1, pp. 314–322. (In Russian)
15. Geelmuyden N. Ch. *Spermageddon — forplantningsevnen i fritt fall*. Rus. ed. Moscow, Eksmo Publ., 2021, 352 p. (In Russian)
16. 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*. PhD thesis abstract (Medicine). Moscow, [s. n.], 2016, 48 p. (In Russian)
17. Galimov Sh. N., Gizatullin T. R., Farkhutdinov R. R., 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. *Meditsina truda i promyshlennaia ekologiia*, 2009, no. 10, pp. 36–39. (In Russian)
18. Okhobotov D. A., Zaraisky E. I., Pavlova G. V., Kamalov A. A. Immunological factors of infertility and sperm antigens. *Meditsinskie nauki*, 2007, no. 4, pp. 31–42. (In Russian)
19. Lutsky D. L., Goncharova L. A., Vybornov S. V., Lutskeya A. M., Makhmudov R. M. The influence of chemical factors on the state of the male reproductive system (literature review). *Russian Journal of Human Reproduction*, 2009, no. 6, pp. 48–64.
20. Sataeva T. P., Kovalchuk A. V., Kutya S. A. The life cycle of the sperm. *Krymskii zhurnal eksperimental'noi i klinicheskoi meditsiny*, 2018, vol. 8, no. 1, pp. 113–122. (In Russian)
21. Shatokhina I. S., Kuznetsova V. S. *The study of ejaculate*. Moscow, MONIKI im. M. F. Vladimirovskogo Publ., 2014, 20 p. (In Russian)
22. Heffner L. *Human Reproduction at a Glance*. Rus. ed. Moscow, GEOTAR-Media Publ., 2003, 124 p. (In Russian)
23. Sagalov A. V. *Outpatient andrology*. Moscow, GEOTAR-Media Publ., 2017, 528 p. (In Russian)
24. Björndahl L., Mortimer D., Barratt L. R. Ch., Castilla J. A., Menkveld R., Kvist U., Alvarez J. G., Haugen T. B. *A Practical Guide to Basic Laboratory Andrology*. Cambridge, Cambridge University Press, 2010, 357 p.
25. Wang G. G., Guo Y. S., Zhou T., Shi X. D., Yu J., Yang Y., Wu Y. B., Wang J., Liu M. X., Chen X., Tu W., Zeng Y., Jiang M., Li S., Zhang P., Zhou Q., Zheng B., Yu Ch., Zhou Z., Guo X., Sha J. In-depth proteomic analysis of the human sperm reveals complex protein compositions. *Journal of Proteomics*, 2013, no. 79, pp. 114–122.
26. Muro C. K., Lednev I. K. Race Differentiation Based on Raman Spectroscopy of Semen Traces for Forensic Purposes. *Anal. Chemistry*, 2017, vol. 89, no. 8, pp. 4344–4348.
27. Zou P., Xia F., Yang F., Cao K., Ma K., Mi Z., Huang X., Cai N., Jiang B., Zhao X., Liu W., Chen X. Whole blood and semen identification using mid-infrared and Raman spectrum analysis for forensic applications. *Anal. Methods*, 2016, no. 8, pp. 3763–3767.
28. Das T., Harshey A., Srivastava A., Nigam K., Kumar Yadav V. K., Sharma K., Sharma A. Analysis of the ex-vivo transformation of semen, saliva and urine as they dry out using ATR-FTIR spectroscopy and chemometric approach. *J. Sci. Res. Phar.*, 2013, vol. 2, no. 2, pp. 18–20.
29. Zapata F., Fernández de la Ossa M. Á., García-Ruiz C. Emerging spectrometric techniques for the forensic analysis of body fluids. *TrAC Trends Anal. Chem.*, 2015, vol. 64, pp. 53–65.
30. Sharma S., Singh R. Detection and discrimination of seminal fluid using attenuated total reflectance Fourier transform infrared (ATR FT-IR) spectroscopy combined with chemometrics. *International Journal of Legal Medicine*, 2020, vol. 134, no. 2, pp. 411–432.
31. Zha S., Wei X., Fang R., Wang Q., Lin H., Zhang K., Zhang H., Liu R., Li Z., Huang P., Wang Z. Estimation of the age of human semen stains by attenuated total reflection Fourier transform infrared spectroscopy: a preliminary study. *Forensic Sci. Res.*, 2019, vol. 5, no. 2, pp. 119–125.
32. Gregório I., Zapata F., Torre M., García-Ruiz C. Statistical approach for ATR-FTIR screening of semen in sexual evidence. *Talanta*, 2017, vol. 174, pp. 853–857.
33. Abramovich A., Shulzinger A. Diagnostic and Analysis of Human Sperm Characteristics Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy. *Open Journal of Urology*, 2015, no. 5, pp. 97–101.
34. Das T., Ammal A., Harshey A., Srivastava A. Vibrational Spectroscopic approaches for semen analysis in forensic investigation: State of the art and way forward. *Microchemical Journal*, 2021, vol. 171, no. 1, p. 106810.

35. Barcot O., Balarin M., Gamulin O., Jezek D. Investigation of Spermatozoa and Seminal Plasma by Fourier Transform Infrared Spectroscopy. *Appl. Spectroscopy*, 2017, vol. 61, no. 3, pp. 309–313.
36. WHO *Guidelines for the study and treatment of human ejaculate*. Moscow, Kapital Print, 2012, 305 p. (In Russian)
37. Nechiporenko A. P., Orekhova S. M., Sitnikova V. E., Gromova M. A., Bushueva A. V., Uspenskaya M. V. Fourier spectroscopy of sarcoplasmic, myofibrillar, and connective tissue proteins of pork muscle tissue. *Nauchnyi zhurnal NIU ITMO. Seriya "Processy i apparaty pishchevykh proizvodstv"*, 2021, no. 1 (47), pp. 3–14. (In Russian)
38. Nechiporenko A. P., Orekhova S. M., Nechiporenko U. Yu., Plotnikova L. V. Biophysics. *Opticheskie svoystva biologicheskikh tkanei zhitovnogo i rastitel'nogo proiskhozhdeniia*. St. Petersburg, Lan' Publ., 2022, 404 p. (In Russian)
39. Silverstein R. M., Webster F. X., Kiemle D. J. *Spectrometric identification of organic compounds*. Rus. ed. Moscow, BINOM. Laboratoriia znaniy Publ., 2012, 557 p. (In Russian)
40. 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: methods of IR-Fourier spectroscopy and refractometry. *Izvestiia vuzov. Prikladnaia khimiia i biotekhnologiya*, 2021, vol. 11, no. 4, pp. 627–641. (In Russian)
41. Schweitzer-Stenner R. Advances in Vibrational Spectroscopy as a Sensitive Probe of Peptide and Protein Structure: A Critical Review. *Vibrational Spectroscopy*, 2006, no. 42, pp. 98–117.
42. Usoltsev D. A., Sitnikova V. E., Nosenko T. N., Olekhovich R. O., Uspenskaya M. V. Comparison of methods for calculating the secondary structure of proteins based on deconvolution of infrared spectra. *Nauchno-tekhnicheskii vestnik ITMO*, 2019, vol. 19, no. 4, pp. 586–593. (In Russian)
43. Skuredina A. A., Tychinina A. S., Le-Deigen I. M., Belogurova N. G., Kudryashova E. V. Regulation of the properties of lipid membranes in the interaction with 2-hydroxypropyl β -cyclodextrin. Molecular details. *Bioorganicheskaiia khimiia*, 2020, vol. 6, no. 5, pp. 505–516. (In Russian)
44. Antonov M. P., Zhigulina V. V. The effect of biochemical changes in sperm lipids and spermoplasm on the fertility of the ejaculate. *Verkhnevolzhskii meditsinskii zhurnal*, 2012, vol. 10, no. 3, pp. 47–51. (In Russian)
45. Nechiporenko U. Yu., Plotnikova L. V., Melnikova M. I. *Lipids, their blends, oil extracts and meal of vegetable raw materials. Optical properties*. [S.l.], Lambert Academic Publishing, 2019, 149 p. (In Russian)
46. Khavinson V. H. Tissue-specific action of peptides. *Biulleten' eksperimental'noi biologii i meditsiny*. 2001, vol. 132, no. 8, pp. 228–229. (In Russian)
47. Khavinson V. H. Unified mechanism of peptide regulation of gene expression and protein synthesis in wildlife. *Vestnik Meditsinskogo tsentra Upravleniia delami Prezidenta Respubliki Kazakhstan*, 2017, no. 2, pp. 13–18. (In Russian)
48. Shataeva L. K., Khavinson V. H., Ryadnova I. Y. *Peptide self-regulation of living systems (facts and hypotheses)*. St. Petersburg, Nauka Publ., 2003, 222 p. (In Russian)

Received: April 10, 2023
Accepted: October 19, 2023

Authors' information:

Alimpiada P. Nechiporenko — Dr. Sci. in Chemistry, Professor; allanech2512@yandex.ru
Vera E. Sitnikova — PhD in Chemistry, Associate Professor; v.e.sitnikova@gmail.com
Ulyana Yu. Nechiporenko — Laboratory Assistant; unechiporenko@yandex.ru
Andrey V. Konovalenko — Medical Examiner; andrkon1980@mail.ru