

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.01.008

孕前保健男性年龄与精子 DNA 碎片、精液常规参数的相关性分析*

庾伟坚,路瑞静,江凡,陈献,梁淑馨,胡蝶,周喜友[△]

广东省深圳市宝安区妇幼保健院检验科,广东深圳 518102

摘要:目的 探讨孕前保健男性年龄与精子 DNA 碎片、精液常规参数之间的临床关联。方法 收集 2018 年 5 月至 2019 年 6 月于深圳市宝安区妇幼保健院生殖健康科就诊的孕前保健检查男性 1 237 例,依据年龄截点将其分为 3 组(20~29 岁,30~39 岁和 ≥ 40 岁)。采用染色质结构分析实验检测精子 DNA 碎片指数(DFI)、精子成熟度,同时依据世界卫生组织第五版标准操作规程检测各项精液常规临床参数。结果 ≥ 40 岁男性的前向运动精子百分率、精子存活率与 20~29 岁男性相比,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。 ≥ 40 岁男性的前向运动精子百分率、精子存活率、精液体积、不动精子百分率与 30~39 岁男性相比,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。同时 ≥ 40 岁男性精子 DFI 显著高于 20~29 岁、30~39 岁的男性($P < 0.001$),且 DFI 与年龄呈正相关关系($r = 0.11, P < 0.000 1$),尤表现在 ≥ 40 岁男性精子 DFI 与年龄呈显著性正相关关系($r = 0.18, P < 0.000 1$)。男性精子 DFI 与正常形态精子百分率、精液浓度、前向运动精子百分率、精子存活率、非前向运动精子百分率呈负相关关系($r = -0.21, -0.11, -0.45, -0.45, -0.21$, 均 $P < 0.05$);而与禁欲天数、精液体积、不动精子百分率、头部畸形精子百分率呈正相关关系($r = 0.14, 0.13, 0.46, 0.21$, 均 $P < 0.05$)。年龄、精液体积、正常形态精子百分率、前向运动精子百分率、精子成熟度、非前向运动精子百分率和不动精子百分率是男性精子 DNA 碎片的独立风险因素。结论 年龄影响精子活力,精子 DNA 碎片显著增加;男性精子 DFI 与其他精液常规参数呈紧密相关,可作为一项重要的男性精子质量评价指标,为全面客观评价孕前保健男性生育能力提供了有利证据。

关键词:男性; 年龄; 精子 DNA 碎片; 精液常规参数

中图分类号:R446.19

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)01-0030-05

The relationship between age and sperm DNA fragments, semen routine parameters in preconception care males*

YU Weijian, LU Ruijing, JIANG Fan, CHEN Xian, LIANG Shuxin, HU Die, ZHOU Xiyou[△]

Department of Clinical Laboratory, Baoan District Maternal and Child

Health Care Hospital, Shenzhen, Guangdong 518102, China

Abstract: Objective To investigate the clinical associations between the age with sperm DNA fragments index (DFI) and semen routine parameters among preconception care males. **Methods** A total of 1 237 males undergoing the preconception care examination in the Baoan District Maternal and Child Health Care Hospital from May 2018 to June 2019 were collected and divided into the three groups(20-29 years old, 30-39 years old and ≥ 40 years old) according to the age cutoff points. The semen chromatin structure analysis(SCSA) method was utilized to detect the sperm DFI and sperm maturity, at the same time the semen routine clinical parameters were detected according to the fifth edition of the standard operating procedure by WHO. **Results** Compared with the 20-29 years old groups, the forward motile sperm percentage, and sperm survival rate in the males of ≥ 40 years old manifested statistically significantly differences ($P < 0.001$). Compared with the 30-39 years old groups, the forward motile sperm percentage, sperm survival rate, semen volume and immotile sperm percentage in the males of ≥ 40 years old manifested statistically significantly differences ($P < 0.001$). Meanwhile the sperm DFI in males of ≥ 40 years old was significantly higher than that in the males of

* 基金项目:广东省深圳市宝安区科技创新计划基础研究项目(2015094、2018JD125)。

作者简介:庾伟坚,男,主管技师,从事男科实验室检验相关临床工作。 [△] 通信作者, E-mail:zhouxiyou1975@163.com。

本文引用格式:庾伟坚,路瑞静,江凡,等.孕前保健男性年龄与精子 DNA 碎片、精液常规参数的相关性分析[J].检验医学与临床,2021,18(1):30-33.

20—29 years old and 30—39 years old ($P < 0.05$), moreover DFI showed the positive correlation with the age ($r = 0.11, P < 0.0001$), particularly the sperm DFI and age in the males of ≥ 40 years old demonstrated the significantly positive correlation ($r = 0.18, P < 0.0001$). The male sperm DFI was negatively correlated with and the percentage of normal morphology sperms, semen concentration, forward motile sperm percentage, sperm survival rate and non-forward motile sperm percentage ($r = -0.21, -0.11, -0.45, -0.45, -0.21, P < 0.05$); but had the positive correlation with abstinence days, semen volume, immotile sperm percentage and abnormal head ($r = 0.14, 0.13, 0.46, 0.21, P < 0.05$). The age, semen volume, normal morphology sperm percentage, forward motile sperm percentage, HDS, non-forward motile sperm percentage and immotile sperm percentage were the independently risk factors for male sperm DFI. **Conclusion** The age affects the sperm motility, the sperm DFI is significantly increased; the male sperm DFI is closely correlated with the other semen routine parameters and can serve as an important quality evaluation index of male sperm, which provides the beneficial evident for comprehensively and objectively evaluating the fertility of the preconception care males.

Key words: male; age; sperm DNA fragmentation; semen routine parameters

研究显示,生殖健康已成为世界性问题,约影响 20% 的育龄期家庭^[1-2],其中男性因素单独占 1/3^[3]。众所周知,男性年龄 > 35 岁或是 > 40 岁被认为是高龄,并可直接影响妊娠结局。随着年龄的增加,男性在性激素水平、氧压力、体细胞突变、感染等方面面临更大的选择性压力进而延长备孕时间,严重的可导致体外胚胎植入失败,甚至影响新生命的健康^[4-6]。目前临床评估男性生殖能力主要依赖传统的描述性的精液常规检查参数,包括精液体积,精子数量、形态、活力、存活率等,但因无法准确衡量男性生育能力的高低而制约其临床应用。

精子 DNA 碎片指数 (DFI) 可衡量精子核 DNA 结构完整性,是影响胚胎完整发育的关键因素。当精子 DNA 结构受损时,可影响妊娠结局,例如复发性流产^[7];因此,DFI 可成为新的评估精子质量和预测生育结局的临床指标。本研究旨在探讨年龄与精子 DNA 结构完整性以及传统精液常规各项参数之间的临床关联性,为临床全面客观评估男性生育力提供相关依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2018 年 5 月至 2019 年 6 月在深圳市宝安区妇幼保健院生殖健康科进行孕前保健检查的男性 1 237 例,年龄 21~58 岁。排除患有肿瘤、无精子症、精索静脉曲张、配偶不良孕产史、隐睾症等男性患者。依据年龄截点分为 3 组,分别为 20~29 岁、30~39 岁和 ≥ 40 岁。

1.2 方法

1.2.1 精液标本获取 就诊男性禁欲 2~7 d,采用手淫法获取精液标本置于无菌取精杯中迅速运送至精液分析实验室。

1.2.2 精液常规参数分析 将精液标本置于 37 °C 恒温水浴箱中振荡液化 30 min,液化完全后进行精液

常规检验。采用计算机辅助精子分析系统 (CASA) 分析获取精液常规各项参数。

1.2.3 精子形态参数分析 吸取 20 μL 混匀的精液标本制作 2 张精子涂片,采用 Diff-Quik (BioMart, 深圳, 中国) 快速染液进行染色。200 倍镜下观察精子形态,并连续计数 200 个精子,计算精子正常形态百分率、精子头部畸形数。

1.2.4 精子 DFI 分析 利用 SCSA 方法结合流式细胞术检测精子 DFI 和精子成熟度。检测试剂盒为精子核完整性染色试剂盒 (珠海安达圣物科技有限公司, 珠海, 中国)。流式细胞术至少计数 5 000 条精子为有效数据。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 20.0 统计软件进行整理分析,呈偏态分布的计量资料以中位数 (M) 和四分位数 ($P_{25} \sim P_{75}$) 表示,3 组间比较采用非参数 Kruskal-Wallis 检验,并同时进行组间两两分析;相关分析采用 Spearman 分析,采用多因素 Logistic 回归分析各精液参数间的关系。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 精液常规参数一般情况 如表 1 所示, ≥ 40 岁男性的前向运动精子百分率、精子存活率与 20~29 岁男性相比,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); ≥ 40 岁男性的前向运动精子百分率、精子存活率、精液体积、不动精子百分率与 30~39 岁男性相比,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。其中随着孕前保健男性年龄的增加,前向运动精子百分率、精子存活率显著降低 ($P < 0.05$)。正常形态精子百分率、精子浓度、精子总数、精子成熟度、禁欲天数、精液 pH、非前向运动精子百分率及头部畸形精子百分率等精液临床参数在 3 组年龄男性中差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.2 年龄与精子 DFI 的相关关系 如图 1 所示,相比 20~29 岁、30~39 岁孕前保健男性群体, ≥ 40 岁

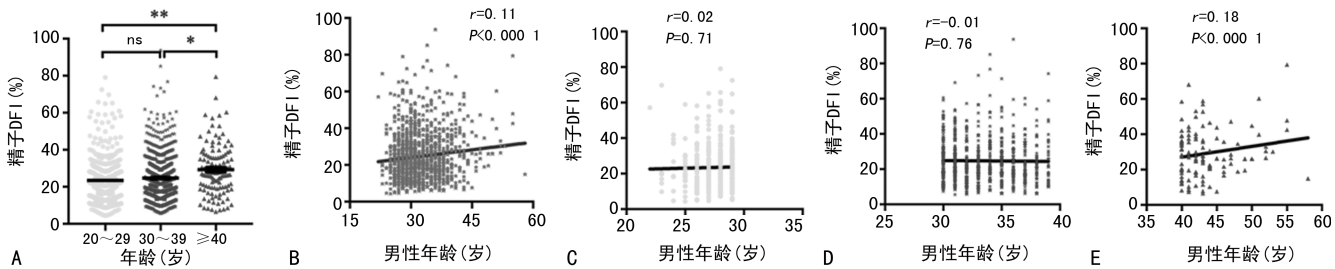
男性精子 DFI 显著增加 ($P < 0.001$, 图 1A); 而 20~29 岁与 30~39 岁男性群体精子 DFI 差异无统计学意义 ($P > 0.05$; 图 1A)。年龄与精子 DFI 存在正相关关系 ($r = 0.11, P < 0.000 1$, 图 1B), 表现在 ≥ 40 岁男

性相关关系更显著 ($r = 0.18, P < 0.000 1$, 图 1E), 20~29 岁和 30~39 岁男性群体年龄与精子 DFI 无相关关系 ($P > 0.05$, 图 1C、1D)。

表 1 基于年龄分组的精液临床参数一般信息 [$M(P_{25} \sim P_{75})$]

精液参数	20~29 岁	30~39 岁	≥ 40 岁
正常形态精子百分率(%)	4.5(3.0~5.48)	4.0(2.5~5.0)	4.0(2.5~5.5)
精子浓度($\times 10^6$ /mL)	50.9(28.2~81.1)	56.1(32.8~80.9)	54.2(34.7~95.2)
前向运动精子百分率(%)	36.0(24.5~45.0)	34.0(23.0~44.0)	32.0(18.0~40.5)* Δ
精子总数($\times 10^6$ /个)	169.7(94.5~285.9)	175.6(98.8~282.7)	187.0(79.7~294.8)
精子成熟度(%)	4.8(3.0~6.9)	4.7(3.1~7.1)	4.7(3.4~6.6)
禁欲天数(d)	4(3~7)	4(3~7)	5(3~7)
精子存活率(%)	75(69.5~83.0)	77(68.0~82.0)*	73(60.0~80.0)* Δ
精液 pH	7.4(7.4~7.4)	7.4(7.4~7.4)	7.4(7.4~7.4)
精液体积(mL)	3.4(2.5~4.5)	3.4(2.5~4.3)	3.0(2.2~3.95) Δ
非前向运动精子百分率(%)	18.0(14.0~22.0)	18.0(13.0~22.0)	17.0(12.0~23.5)
不动精子百分率(%)	45.0(34.0~56.0)	47.0(35.0~59.0)	50.0(37.0~68.5) Δ
头部畸形精子百分率(%)	95.5(94.5~97.0)	96.0(95.0~97.5)	96.0(94.5~97.5)

注:与 20~29 岁比较,* $P < 0.05$;与 30~39 岁比较, $\Delta P < 0.05$ 。



注:A 为精子 DFI 在 20~29 岁、30~39 岁、 ≥ 40 岁孕前保健男性群体之间的分布,两组间比较,* $P < 0.001$,** $P < 0.000 1$;B 为孕前保健男性群体精子 DFI 与其对应孕前保健男性年龄之间的关联性;C 为 20~29 岁孕前保健男性群体中年龄与其对应精子 DFI 的关联性;D 为 30~39 岁孕前保健男性群体精子 DFI 与其年龄的关联性;E 为 ≥ 40 岁孕前保健男性群体精子 DFI 与其年龄的关联性。

图 1 孕前保健男性年龄与精子 DFI 的临床联系

2.3 精子 DFI 与其他精液临床参数之间的相关性分析 精子 DFI 与正常精子形态百分率、精子浓度、前向运动精子百分率、精子存活率、非前向运动精子百分率呈负相关关系 ($r = -0.21, -0.11, -0.45, -0.45, -0.21$, 均 $P < 0.05$); 而与禁欲天数、精液体积、不动精子百分率、头部畸形精子百分率呈显著的正相关关系 ($r = 0.14, 0.13, 0.46, 0.21$, 均 $P < 0.05$)。与 20~29 岁男性群体相比,30~39 岁及 ≥ 40 岁男性在前向运动精子百分率、精子存活率、非前向运动精子百分率、不动精子百分率和头部畸形精子百分率这 5 个精液参数中呈更强的相关关系。见表 2。

表 2 DFI 与精液常规基于年龄分组相关性分析

精液参数	20~29 岁		30~39 岁		≥ 40 岁	
	r	P	r	P	r	P
正常形态精子百分率	-0.15	<0.01	-0.12	<0.01	-0.21	0.02
精子浓度	-0.13	<0.01	-0.02	0.62	-0.07	0.43

续表 2 DFI 与精液常规基于年龄分组相关性分析

精液参数	20~29 岁		30~39 岁		≥ 40 岁	
	r	P	r	P	r	P
前向运动精子百分率	-0.40	<0.01	-0.18	<0.01	-0.24	<0.01
精子总数	-0.03	0.61	0.07	0.07	-0.06	0.53
精子成熟度	-0.01	0.84	0.01	0.77	0.01	0.94
禁欲天数	0.10	0.04	0.16	<0.01	0.09	0.36
精子存活率	-0.10	0.05	-0.48	<0.01	-0.36	<0.01
精液体积	-0.06	0.20	0.02	0.61	0.11	0.22
非前向运动精子百分率	0.03	0.44	-0.23	<0.01	-0.28	<0.01
不动精子百分率	0.13	<0.01	0.47	<0.01	0.50	<0.01
头部畸形精子百分率	0.11	0.02	0.22	<0.01	0.35	<0.01

2.4 多因素 Logistic 回归分析精子 DNA 碎片的风险因素 如表 3 所示,应用多变量 Logistic 回归分析显示,年龄、精液体积和不动精子百分率是精子 DNA

碎片的风险因素($OR = 1.031, 1.215, 1.038$)。正常形态精子百分率、前向运动精子百分率、精子成熟度和非前向运动精子百分率是精子 DNA 碎片的保护性因素($OR = 0.912, 0.011, 0.966, 0.968$)。

表 3 精子 DNA 碎片与年龄及精液临床参数的多变量 Logistics 回归分析

项目	OR	95%CI	P
年龄	1.031	1.004~1.059	0.025
正常形态精子百分率	0.912	0.836~0.994	0.037
精子浓度	1.006	0.999~1.103	0.077
前向运动精子百分率	0.011	0.944~0.993	0.011
精子总数	0.999	0.997~1.001	0.258
精子成熟度	0.966	0.936~0.998	0.036
禁欲时间	1.009	0.956~1.066	0.736
精子存活率	0.984	0.958~1.010	0.215
精液体积	1.215	1.113~1.327	0.000 1
非前向运动精子百分率	0.968	0.944~0.993	0.013
不动精子百分率	1.038	1.017~1.059	0.001

3 讨 论

研究证实,年龄增加与精液质量呈负相关关系;年龄可影响性激素水平,增大机体氧化应激压力,增加体细胞突变率,从而进一步影响男性生殖能力^[8]。然而,有研究发现男方高龄对处于分裂期的受精卵和胚胎质量并无显著影响^[9]。另一项在 415 对夫妻试管婴儿的研究中发现妊娠结局与男方高龄没有显著关联^[10]。因而,目前有关年龄影响男性生育能力的具体的细节性研究仍存在较大争议,亟待更准确地研究评估年龄和男性生育能力之间的关系。

本研究主要阐述年龄对精液常规参数以及精子 DNA 结构完整性的影响。研究结果显示,年龄的增加可显著影响精子正常形态、前向运动精子百分率、精子存活率、精液体积、不动精子百分率以及头部畸形精子百分率等传统的描述性的精液常规参数。另外,随着年龄的增加,精子 DFI 也呈显著增加的态势,且年龄与精子 DFI 呈正相关关系。这种正相关关系更加明显地表现在 ≥ 40 岁男性群体;年龄在 40 岁以下的男性群体,精子 DFI 变化与年龄并无显著相关性。类似的研究结果在一项 1 124 例 ≥ 40 岁的男性群体研究中也得到证实^[8]。精子 DFI 是评估胚胎质量的一项关键指标,被广泛应用于生殖实验室,可直接反映精子 DNA 结构完整性程度,并与男性生殖能力紧密相关。研究表明不育男性的 DFI 显著高于正常男性^[11-12],因此,本研究进一步分析了精子 DFI 与传统精液常规参数的关联性,结果发现精子 DFI 与部分描述性精液常规参数存在正相关或者负相关关系。

更重要的是,本研究发现与 20~29 岁男性群体相比,30~39 岁及 ≥ 40 岁男性在前向运动精子百分率、精子存活率、非前向运动精子百分率、不动精子百分率和头部畸形精子百分率这 5 个精液参数中呈更强的相关关系。为了消除一些混杂因素的影响,利用 Logistic 回归分析精子 DNA 碎片的风险因素,结果证实年龄是精子 DNA 碎片的独立危险因素。这些结果更进一步证实了年龄可一定程度上影响传统的精液常规参数和精子 DNA 结构完整性,可为临床生殖实验室评估男性精液质量,特别是高龄男性生育能力提供可靠的证据。

迄今为止,有关年龄如何影响精液参数质与量的研究结论尚未完全明朗,存在多方面影响因素。一些研究显示,由于年龄增加而致使体内活性氧(ROS)的增加、降低精子抗氧化保护屏障以及机体氧化应激反应引发的精子损伤等原因可降低精液质量合格程度^[13-14];类似的研究发现体内过量的 ROS 水平与精子 DNA 结构损害程度呈正相关关系。另外,有研究证实男性高龄可能会影响精子 DNA 结构受损时的结构重塑过程,从而致使精子染色质结构域组装失败并且严重降低其 DNA 片段修复能力^[15-16]。这些研究可在一定程度上解释了高龄男性对氧化应激攻击的脆弱性,从而导致其生育能力低下。因此,后续需要更多的研究聚焦探索年龄影响精子 DNA 结构改变的其他机制,如生殖细胞突变等方面机制。由于回顾性分析的限制,本研究未能收集到其他地区以及不同生活环境的受试者信息以减少偏倚性,因而后续也需要不同地域的多中心的临床和实验室研究印证结果的准确性。

参考文献

- [1] PAN M M, HOCKENBERRY M S, KIRBY E W, et al. Male infertility diagnosis and treatment in the era of in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection [J]. *Med Clin North Am*, 2018, 102(2): 337-347.
- [2] UPPANGALA S, PUDAKALAKATTI S, D'SOUZA F, et al. Influence of sperm DNA damage on human preimplantation embryo metabolism [J]. *Reprod Biol*, 2016, 16(3): 234-241.
- [3] AGARWAL A, MULGUND A, HAMADA A, et al. A unique view on male infertility around the globe [J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2015, 13: 37-42.
- [4] GARCIA-FERREYRA J, LUNA D, VILLEGAS L, et al. High aneuploidy rates observed in embryos derived from donated oocytes are related to male aging and high percentages of sperm DNA fragmentation [J]. *Clin Med Insights Reprod Health*, 2015, 9: 21-27. (下转第 37 页)

具体细胞信号通路作用未明确,之后将对炎症因子及细胞衰老凋亡相关蛋白等进行进一步研究。复方黄柏液在皮肤应用范围较广,对湿疹、接触性皮炎、脂溢性皮炎、带状疱疹、中毒性表皮松解症具有显著效果^[15-16],对皮肤无明显刺激作用,安全性高,可进行更多的研究,使其更好地用于临床工作中。

参考文献

[1] 李岷,甄雅贤.外用含维生素 C、阿魏酸和根皮素的抗氧化制剂对紫外线诱导的皮肤光损伤的保护功效[J].中华皮肤科杂志,2010,43(6):447.

[2] 姚俊,赵霞.复方黄柏液最新临床应用进展[J].中国新药杂志,2014,23(3):308-312.

[3] 李慎新,曹新志,钟俊波,等.几种中草药抗氧化性成分的还原能力及总酚含量比较研究[J].安徽农业科学,2008,36(29):12755-12756.

[4] 邓蕙妍,肖峰,高爱莉,等.人表皮角质形成细胞急性光损伤模型的构建[J].新医学,2013,44(8):556-559.

[5] HU S, HUANG J, PEI S, et al. Ganoderma lucidum polysaccharide inhibits UVB-induced melanogenesis by antagonizing cAMP/PKA and ROS/MAPK signaling pathways[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(5):7330-7334.

[6] WANG X Y, BI Z G. UVB-irradiated human keratinocytes and interleukin-1 α indirectly increase MAP kinase/AP-1 activation and MMP-1 production in UVA-irradiated dermal fibroblasts[J]. Chinese Med J, 2006, 119(10):827-831.

[7] 高爱莉,江娜,刘清,等.探讨姜黄素和茶多酚对不同时间

UVB致无毛鼠急性光损伤的防御作用[J].中国比较医学杂志,2015,25(5):9-12.

[8] 李建民,杨柳,王业秋,等.补骨脂素对中波紫外线导致人皮肤 HaCaT 细胞光老化的保护作用[J].现代生物医学进展,2017,17(2):214-219.

[9] 彭丽倩,江娜,刘清,等.枸杞多糖抗氧化机制及其在皮肤科的研究进展[J].国际皮肤性病杂志,2017,43(1):39-42.

[10] 曾一,回瑞华,侯冬岩.黄柏中黄酮类化合物的提取及其抗氧化性分析[J].鞍山师范学院学报,2010,12(6):60-62.

[11] 滕杨,谭天,罗时旋,等.关黄柏的超临界 CO₂ 萃取物成分分析及抗氧化活性研究[J].中国现代应用药学,2014,31(7):824-827.

[12] 梅雪,周安琴,李静,等.连翘的化学成分、药理学与毒理学研究概况[J].中国药房,2015,26(22):3143-3146.

[13] 沈奇,沈小青,吴国荣.蒲公英绿原酸白芨多糖包合物的抗氧化作用[J].南京师大学报(自然科学版),2010,33(3):81-84.

[14] 青杰超,林子然,莫开林.金银花和蒲公英抑菌、抗氧化以及抗紫外作用初探[J].四川林业科技,2018,39(6):61-63.

[15] 李元红.复方黄柏液皮肤科新用[J].中国中医急症,2006,15(6):672.

[16] 韩锋,王晓鹏,安金刚,等.复方黄柏液湿敷治疗中毒性表皮坏死松解症的临床疗效观察[J].中国皮肤性病杂志,2019,33(2):130-134.

(收稿日期:2020-05-16 修回日期:2020-11-15)

(上接第 33 页)

[5] BELLOC S, HAZOUT A, ZINI A, et al. How to overcome male infertility after 40; influence of paternal age on fertility[J]. Maturitas, 2014, 78(1):22-29.

[6] ROSIAK A, GILL K, JAKUBIK J, et al. Is advanced paternal age a reproductive risk? Part II: embryo development, achieve pregnancy and health of offspring[J]. Post Androl Online, 2017, 4:33-40.

[7] BENCHAI B, BRAUN V, LORNAGE J, et al. Sperm DNA fragmentation decreases the pregnancy rate in an assisted reproductive technique[J]. Hum Reprod, 2003, 18(5):1023-1028.

[8] ROSIAK-GILL A, GILL K, JAKUBIK J, et al. Age-related changes in human sperm DNA integrity[J]. Aging (Albany NY), 2019, 11(15):5399-5411.

[9] WU Y, KANG X, ZHENG H, et al. Effect of paternal age on reproductive outcomes of in vitro fertilization[J]. PLoS One, 2015, 10(9):e0135734.

[10] ALFARAJ S S, YUNUS F. Advancing paternal age does not affect in-vitro fertilization (IVF) outcomes in a Saudi population[J]. Middle East Fertil Soc J, 2015, 20(3):204-208.

[11] HAGSTROM H, NASR P, EKSTEDT M, et al. Fibrosis stage but not NASH predicts mortality and time to development of severe liver disease in biopsy-proven NAFLD[J]. Hepatol, 2017, 67(6):1265-1273.

[12] REX A S, AAGAARD J, FEDDER J. DNA fragmentation in spermatozoa; a historical review[J]. Andrology, 2017, 51(4):622-630.

[13] KOH S A, SANDERS K, BURTON P. Effect of male age on oxidative stress markers in human semen[J]. J Reprod Biotechnol Fertil, 2016, 5:1-10.

[14] ASADI N, BAHMANI M, KHERADMAND A, et al. The impact of oxidative stress on testicular function and the role of antioxidants in improving it; a review[J]. J Clin Diagn Res, 2017, 11(5):IE01-IE05.

[15] LIGUORI I, RUSSO G, CURCIO F, et al. Oxidative stress, aging, and diseases[J]. Clin Interv Aging, 2018, 13:757-772.

[16] SABETI P, POURMASUMI S, RAHIMINIA T, et al. Etiologies of sperm oxidative stress[J]. Int J Reprod Biomed (Yazd), 2016, 14(4):231-240.

(收稿日期:2020-03-14 修回日期:2020-10-28)