

• 临床研究 •

中国弱精症患者精液氧化损伤评价

张子钰¹, 姜辉³, 安春娜¹, 李夏溪¹, 李璐娟¹, 赵欣¹, 蒲小平^{1,2}

(北京大学 1 药学院分子与细胞药理学系 2 天然药物与仿生药物国家重点实验室,
3 第三医院生殖医学中心, 北京 100191)

[摘要] 目的: 探讨弱精症发病的分子机制。方法: 收集 113 例弱精症患者和 58 例年龄相仿的健康志愿者正常精液样本, 分离精子、精浆, 分别检测其氧化损伤状态。结果: 弱精症患者组的精浆样本中, 总抗氧化能力(T-AOC)、铜锌-超氧化物歧化酶(SOD-1)、总超氧化物歧化酶(T-SOD)、还原型谷胱甘肽(GSH)的结果均低于正常组, 但是谷胱甘肽-S-转移酶(GST)活力显著性高于正常组; 精子裂解液测定结果显示, 弱精症患者的 SOD-1 和 T-SOD 的活力显著性低于正常组, 而 GST 活力两组基本相当。结论: 弱精症患者精液中存在的由于 DJ-1 低表达而引起的氧化应激损伤, 是其可能的发病分子机制之一。

[关键词] 弱精症; 氧化损伤; DJ-1; 铜锌-超氧化物歧化酶; 还原型谷胱甘肽

[中图分类号] R96 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1003-3734(2013)13-1556-05

Evaluation of oxidative damage of ejaculated spermatozoa from Chinese asthenozoospermia patients

ZHANG Zi-yu¹, JIANG Hui³, AN Chun-na¹, LI Xia-xi¹, LI Lu-juan¹, ZHAO Xin¹, PU Xiao-ping^{1,2}

(1 Department of Molecular and Cellular Pharmacology, School of Pharmaceutical Science,
2 State Key Laboratory of Natural and Biomimetic Drugs 3 Department of Andrology,
Third Hospital, Peking University, Beijing 100191, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the potential molecular mechanisms of asthenozoospermia. **Methods:** One hundred and thirteen semen samples of asthenozoospermia patients and 58 semen samples of healthy volunteers were collected. Then sperm and seminal plasma were separated, and their oxidative damages were evaluated. **Results:** For the samples of asthenozoospermia patients, the T-AOC, SOD-1, T-SOD and GSH all decreased compared with the normal group, however, GST activity was significantly higher. The result of sperm lysate analysis suggested that the activities of SOD-1 and T-SOD of asthenozoospermia patients were significantly lower than the normal group, while the GST activity was similar between the two groups. **Conclusion:** There is a high possibility that the oxidative damage caused by DJ-1 down-expression in asthenozoospermia patients is one of the molecular mechanisms of asthenozoospermia.

[Key words] asthenozoospermia; oxidative damage; DJ-1; SOD-1; GSH

随着社会工业化的快速发展、环境污染的加剧以及社会压力的增加, 不育夫妇明显增多。流行病学调查显示约有 15% 的夫妇不能生育, 其中由男方引起的不育占 25%^[1]。按世界卫生组织标准, 育龄

夫妇婚后同居 1 年以上, 未采用任何避孕措施, 由男方原因导致女方不孕者, 称为男性不育症。导致男性不育的原因有很多, 其中常见病因之一即为弱精症。弱精症又称精子活力低下, 由多种原因引起, 包括生殖道感染、精索静脉曲张、前列腺的急慢性炎症、精子尾部结构异常、吸烟、饮酒, 但其具体分子机制尚不明确。

抗氧化应激蛋白 DJ-1 与雄性不育的关系首先是在大鼠体内发现的^[2]。随后研究者对于 DJ-1 蛋白

[基金项目] 北京市自然科学基金(7122102)

[作者简介] 张子钰, 女, 硕士, 主要从事药理学研究。联系电话: (010) 82802648, E-mail: zzy19871121@126.com。

[通讯作者] 蒲小平, 女, 教授, 主要从事神经药理学研究。联系电话: (010) 82802431, E-mail: puxiaopingbj@163.com。



在人类男性生殖系统的分布进行了探究^[3],在精子中,DJ-1蛋白主要存在于头后部的表面,以及前段和中段,并且DJ-1蛋白在精子的鞭毛上也有表达,说明DJ-1蛋白在精子的活动性中扮演重要角色。Wang等^[4]发现DJ-1蛋白与弱精症可能存在相关性,其表达在患者的精浆中显著降低。本课题组对这一发现进行了进一步探究^[5],发现中国弱精症患者的精子中,其DJ-1蛋白表达显著减少,并且其含量与A级精子的百分比具有较高的相关性,证实DJ-1蛋白与弱精症存在密切关系。

DJ-1蛋白是一个氧化应激相关蛋白,Zhou等^[6]报道DJ-1蛋白可以通过影响还原型谷胱甘肽(glu-tathione,GSH)合成限速酶,即谷氨酸半胱氨酸连接酶,上调GSH含量。另外,Wang等^[7]指出DJ-1在SH-SY5Y细胞中通过Erk1/2-Elk1通路调节铜锌-超氧化物歧化酶(CuZn-superoxide dismutase,SOD-1)的表达水平。

那么,精液中DJ-1蛋白含量的降低是否会导致其氧化应激损伤,从而进一步引起弱精症的发生?因此,我们将与DJ-1蛋白表达水平密切相关的SOD-1活力、GSH含量作为切入点,评价精液的氧化应激状态。本课题组收集了弱精症患者以及健康志愿者的正常精液,处理后获得精子裂解液以及精浆两类样本,分别测定其氧化应激指标,包括:总体描述样本抗氧化能力的指标(T-AOC)、SOD-1相关抗氧化系统(CuZn-SOD/SOD-1,Mn-SOD/SOD-2,T-SOD)、GSH及其相关抗氧化酶系统活力(GSH,GSH-ST)。

材 料

1 研究对象

弱精症患者为北京大学第三医院生殖医学中心男科就诊的患者,通过精液常规检查诊断为弱精症,共计113例,弱精症患者的诊断标准为:快速前向运动的精子(A级精子) < 25% 或前向运动的精子(A+B级精子) < 50%,其他精液常规参数正常;正常对照为与弱精症患者年龄相匹配的精液参数正常的健康志愿者,共58例。精液含脓者不予采用。本实验经北京大学第三医院生殖医学中心伦理委员会批准,患者被告知实验目的并签署知情同意书。

2 试剂

洗涤缓冲液(Hanks平衡盐溶液,含有 $4.2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ HEPES, $0.35\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ NaHCO₃, $0.9\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 右旋葡萄糖,

$0.1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 丙酮酸钠, $0.025\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 大豆胰蛋白酶抑制剂,调节pH至7.4,使用前加入 $0.2\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ PMSF);细胞裂解液($80\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris-HCl缓冲液(pH 7.4)含有 $150\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl, $2\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDTA, $0.4\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ DTT,以及0.1% SDS);BCA(bicinchoninic acid)蛋白定量试剂盒(美国Pierce公司);总抗氧化能力(T-AOC)测定试剂盒(南京建成生物工程研究所);超氧化物歧化酶(SOD)分型试剂盒(抽提法测CuZn-SOD,南京建成生物工程研究所);微量还原型谷胱甘肽(GSH)测定试剂盒(南京建成生物工程研究所);谷胱甘肽-S转移酶(GSH-ST)试剂盒(南京建成生物工程研究所)。

3 仪器

AEL-40SM型电子天平(日本岛津公司);pH计(德国Sartorius公司);WLJY-9000伟力彩色精子质量监测系统(北京伟力新世纪科技发展有限公司);高速冷冻离心机(美国Sigma公司);超低温冰箱(美国Thermo公司);680型酶标仪(美国Bio-Rad公司)。

方 法

1 标本采集与处理

所有样本均在禁欲2~7d后,以常规方式收集,37℃恒温液化后检查精子的形态、数量、活力等指标。使用巴氏染色法,镜下检查精子的头、尾、颈部的形态以及精子的畸形率,并进行精子计数。另在恒温防尘密封的环境下,用精子质量监测系统自动分析镜下精子运动的特性、精子活力、活率以及动(静)态下各项参数指标。其后向精液样本中加入PMSF(终浓度 $0.2\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)4℃下2500g离心10min,上清为精浆,底层沉淀即为精子。

取精子沉淀,向其中加入1mL洗涤缓冲液(临用前加入PMSF)4℃下2500g离心10min,共洗涤2次,而后向沉淀中加入200μL细胞裂解液,置于冰上,30%强度超声粉碎细胞,每次3s,超声5次至细胞破碎,进而于冰上孵育30min,4℃下12000g离心20min,取上清液,即为精子裂解物,使用BCA法进行蛋白定量,分装后于-80℃保存备用。

取上清液,在4℃条件下进一步以13000g离心20min,取上清液,即为精浆蛋白,分装后-80℃保存备用。

2 精液氧化应激状态评价

将样本处理成精浆及精子裂解液两部分,按照

试剂盒说明书使用分别测定、并计算其 T-AOC 值、SOD-1 活力、SOD-2 活力、T-SOD 活力、GSH 含量以及 GST 活力,各结果计算公式如下:

总抗氧化能力, $T-AOC/U \cdot mL^{-1} = [(测定管吸光度值 - 对照管吸光度值) \times 反应体系稀释倍数 \times 样本测试前稀释倍数] / (30 \times 0.01)$ 。

SOD 活力-精浆 $/U \cdot mL^{-1} = (对照管吸光度值 - 测定管吸光度值) / 对照管吸光度值 \times 2 \times 反应体系的稀释倍数 \times 样本测试前的稀释倍数$ 。

SOD 活力-精子 $/U \cdot mg^{-1} protein = (对照管吸光度值 - 测定管吸光度值) / 对照管吸光度值 \times 2 \times 反应体系的稀释倍数 \times 样本测试前的稀释倍数 \div 待测样本蛋白浓度$ 。

GST 活力-精浆 $/U \cdot \mu L^{-1} = (对照管吸光度值 - 测定管吸光度值) / (标准管吸光度值 - 空白管吸光度值) \times 标准管浓度 \times 反应体系稀释倍数 \div 反应时间 \div 取样量$ 。

GSH 活力-精子 $/U \cdot \mu g^{-1} protein = (对照管吸光度值 - 测定管吸光度值) / (标准管吸光度值 - 空白管吸光度值) \times 标准管浓度 \times 反应体系稀释倍数 \div 反应时间 \div (取样量 \times 待测样本蛋白浓度)$ 。

3 统计学处理

结果采用 SPSS 13.0 统计软件包进行统计学分析,数据以均数 \pm 标准差表示,弱精症与正常组间比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。并对相关数据进行了偏相关性分析(控制射精体积) $P < 0.05$ 具有显著相关性。

结 果

1 精液样本临床常规参数

弱精症患者及志愿者正常精液的常规检查结果

见表 1,精液射出体积、A 级精子百分比以及 A + B 级精子百分比表现出组间差异,具有统计学意义。

表 1 弱精症患者及正常人精液常规参数

参 数	正常	弱精症
样本量	58	113
年龄	32.1 \pm 5.6	32.3 \pm 5.2
精液 pH	7.2 \pm 0.3	7.2 \pm 0.3
射精体积/mL	3.3 \pm 0.9	2.9 \pm 1.1 ^a
精子密度/ $10^6 \cdot mL^{-1}$	86.2 \pm 46.3	75.2 \pm 52.1
A 级精子/%		
平均值	40.8 \pm 10.2	12.8 \pm 7.1 ^c
样本范围	25.15 ~ 66.38	0.24 ~ 24.46
A + B 级精子/%		
平均值	52.5 \pm 11.1	18.2 \pm 9.7 ^c
样本范围	37.92 ~ 75.50	0.71 ~ 39.27

与正常组比较 a: $P < 0.05$ c: $P < 0.001$

2 精浆、精子氧化应激状态的评价

与正常组相比,弱精症患者的精液表现出氧化损伤:与 DJ-1 蛋白相关的抗氧化因子 CuZn-SOD 和 GSH 功能显著性地降低,而与 DJ-1 蛋白功能无关的 Mn-SOD 和 GST 活力未见明显降低,并且在精浆中,显示 GST 活力上调。

2.1 精子裂解液中抗氧化能力测定结果 弱精症患者的精子中, SOD-1 (CuZn-SOD) 活力表现出显著性的降低,而 SOD-2 (Mn-SOD) 的活力下降不明显,由于哺乳动物细胞内 SOD 只含有这两种亚型,所以 SOD-1 的变化进而导致弱精症组的 T-SOD 活力也表现为显著性下降。GST 活力基本不发生变化。由于实验方法灵敏度所限,未能获得定量结果的指标是 T-AOC 和 GSH 含量。结果见表 2。

表 2 精子裂解液氧化损伤评价结果

组别	CuZn-SOD/ $U \cdot mg^{-1} protein$	Mn-SOD/ $U \cdot mg^{-1} protein$	T-SOD/ $U \cdot mg^{-1} protein$	GST/ $U \cdot \mu g^{-1} protein$
正常	182.5 \pm 85.0 <i>n</i> = 62	81.8 \pm 55.3 <i>n</i> = 62	264.3 \pm 128.3 <i>n</i> = 62	0.133 \pm 0.094 <i>n</i> = 29
弱精症	154.5 \pm 60.3 ^a <i>n</i> = 96	71.0 \pm 48.5 <i>n</i> = 96	225.5 \pm 81.2 ^a <i>n</i> = 96	0.119 \pm 0.093 <i>n</i> = 27

与正常组比较 a: $P < 0.05$

2.2 精浆中抗氧化能力测定结果 弱精症组精浆的总抗氧化能力及 GSH 含量均显著性地降低 ($P < 0.01$),可能与 DJ-1 蛋白含量的减少有关^[4]。而我们

观察到 GST 的活力在弱精症患者组的样本显著性增高 ($P < 0.01$)。弱精症组的两种 SOD 同工酶及总 SOD 活力下降,但组间差异没有统计学意义。结果见表 3。

表3 精浆氧化损伤评价结果

组别	T-AOC	CuZn-SOD	Mn-SOD	T-SOD	GSH	GST
	/U·mL ⁻¹	/U·mL ⁻¹	/U·mL ⁻¹	/U·mL ⁻¹	μmol·L ⁻¹	/U·μL ⁻¹
正常	5.21 ± 2.40 n = 24	341.3 ± 126.9 n = 24	285.5 ± 76.1 n = 24	626.8 ± 164.7 n = 24	35.97 ± 13.71 n = 24	0.177 ± 0.077 n = 19
弱精症	3.59 ± 2.18 ^b n = 70	304.0 ± 95.3 n = 70	253.9 ± 106.4 n = 70	593.9 ± 145.8 n = 70	29.01 ± 11.73 ^b n = 70	0.275 ± 0.176 ^b n = 60

与正常组比较 b: P < 0.01

3 精液样本氧化损伤状态与精子活力偏相关性分析

前述结果显示,弱精症患者精液受到氧化性损伤,且显著表现为精子活力低下,由此推测二者可能

存在一定关系,于是对相关数据进行了偏相关性分析(控制射精体积)结果见表4。结果显示,精子的氧化损伤程度与精子活力无关,而精浆的氧化损伤程度与A级精子比例呈正相关关系(P < 0.05)。

表4 精液氧化损伤状态与精子活力偏相关性分析

变 量	精子裂解液		精浆		
	CuZn-SOD	T-SOD	T-AOC	GSH	GST
A级精子百分比	P = 0.556	P = 0.444	P = 0.015 ^a	P = 0.007 ^b	P = 0.028 ^a
A + B级精子百分比	P = 0.753	P = 0.979	P = 0.083	P = 0.058	P = 0.011 ^a

a: P < 0.05 b: P < 0.01

讨 论

根据文献[8]报道,精液中存在过量的ROS,会对精子的活力等指标产生不良影响,并且在男性不育症患者精液中可测得比正常组更高的ROS含量^[9],MDA水平显著性的升高^[10],精子中也存在DNA水平氧化损伤^[11]。但是,弱精症患者精液的氧化损伤及氧化应激状态,作者未见国内外报道。本课题组在前期研究中,发现氧化应激蛋白DJ-1与弱精症密切相关^[5],Western Blotting以及Elisa实验都证实弱精症患者精子中DJ-1蛋白含量明显降低,于是本研究从该蛋白功能出发,提出假设:精液中DJ-1蛋白的降低通过相关通路抑制了精液抗氧化系统,使在机体受到外界刺激时更易发生氧化应激,精子活力受到影响,进而引发弱精症。

体外实验已证实在DJ-1低表达情况下,会引起细胞内SOD-1表达的下降,但对于SOD-2影响不大^[7]。在本实验中,弱精症患者精子裂解液内,观察到SOD-1活力下降,与此同时SOD-2活力发生轻微降低,并由于SOD-1的变化,T-SOD活力也表现出明显的下降趋势。在精浆样本的测试结果中,SOD-1,SOD-2及T-SOD三项指标与正常组比较没有统计学差异。

另一项经由体外实验^[6]证实的,与DJ-1表达量相关的指标是GSH含量。精子裂解液中未测得定量范围以内的GSH,而在精浆中,弱精症患者的GSH含量显著性低于正常组。推测由于精液中的DJ-1含量下降,谷胱甘肽合成限速酶活力受到限制,因此产生GSH含量降低。

与DJ-1蛋白功能不甚密切的GST活力表现不同结果,在精子裂解液样本中,弱精症组与正常对照组基本一致;而精浆中,弱精症患者的GST活力高于对照组样本,其原因可能是弱精症患者的精液中出现ROS升高的现象^[9],所以精浆中GST活力应激性升高,以对抗ROS过高对精子的损伤。本文的主要研究结果作者未见国内外报道。

统计学分析显示,精子活力与精浆的氧化损伤呈正相关性,而与精子无关,说明因精子中缺乏蛋白合成能力,胞质内抗氧化能力低^[8],主要依靠精浆的抗氧化系统^[12],而由于精浆的氧化性损伤致精子活力下降,引发弱精症。除上述结果,本研究还测定了过氧化氢酶(CAT)以及谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)的活力,由于实验方法所限,未能获得定量结果,或许需使用高敏感度方法进行进一步检测。

(下转第1570页)

者血浆中苯磺酸左旋氨氯地平浓度,分析时间仅需 2.5 min,最低定量下限达 0.10 ng·mL⁻¹,具有简便、快速、灵敏度高等特点。

左旋氨氯地平结构中有二氢吡啶环、苯环等官能团,因含有碱性官能团,所以血样需碱化以提高氨氯地平的提取回收率,本文分别比较了加入浓度为 1 mol·L⁻¹ 氢氧化钠溶液 50,100,150 μL 后的回收率,得出加入 100 μL 的实验结果最佳。

受试制剂和参比制剂的主要药动学参数表明无显著性差异,受试制剂的相对生物利用度为(101.8 ± 18.0)%。受试制剂的 AUC₀₋₁,AUC_{0-∞} 及 C_{max} 的 90% 置信区间均符合规定范围,两制剂具有生物等效性。本文可为临床合理使用苯磺酸左旋氨氯地平片提供用药依据。

[参 考 文 献]

[1] 王建华. 苯磺酸氨氯地平对老年原发性高血压患者胰岛素敏感性的影响及疗效观察[J]. 中国基层医药, 2006, 13(3): 493-494.

[2] 刘国树, 王可, 张明华. 氨氯地平与左旋氨氯地平治疗夜间高血压疗效比较[J]. 医学研究生学报, 2001, 14(6): 496-498.

[3] 邱荣, 付研, 赵兴山, 等. 左旋氨氯地平与氨氯地平、硝苯地

平、非洛地平所致不良反应的对比研究[J]. 药物不良反应杂志 2009, 11(5): 315.

[4] 刘军. 左旋氨氯地平与氨氯地平治疗高血压的疗效比较[J]. 中国医药指南, 2011, 9(35): 84-85.

[5] 薛娜, 牛长群. 苯磺酸左旋氨氯地平的毛细管电泳手性分离与纯度检查[J]. 中国医院药学杂志, 2007, 27(1): 51-53.

[6] 陈静, 姚鑫宁, 林丽娜, 等. 手性流动相添加剂法拆分苯磺酸氨氯地平对映体[J]. 沈阳药科大学学报, 2010, 27(2): 131-134.

[7] LUKSA J, JOSIC DJ, KREMSER M *et al.* Pharmacokinetic behaviour of R-(1)- and S-(2)-amLodipine after single enantiomer administration[J]. *Chromatogr B*, 1997, 703(1-2): 185-193.

[8] 刘晶, 邢翔飞. 氨氯地平对映体在家兔体内手性药动学比较研究[J]. 中国药房, 2005, 16(17): 1295-1297.

[9] 陈笑艳, 栾燕, 钟大放, 等. 液相色谱-质谱-质谱联用法测定人血浆中氨氯地平[J]. 药学报, 2001, 36(1): 51-54.

[10] 张孝清, 陆宏国, 徐玉凤, 等. 苯磺酸氨氯地平片相对生物利用度研究[J]. 中国新药杂志, 2003, 12(10): 849-851.

[11] MA YY, QIN F, SUN XH *et al.* Determination and pharmacokinetic study of amLodipine in human plasma by ultra performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry[J]. *Pharm Biomed Anal*, 2007, 43(4): 1540-1544.

[12] 张志锋, 李婧, 肖红涛, 等. HPLC-MS-MS 法测定人血浆中苯磺酸氨氯地平的浓度及其药动学[J]. 西南民族大学学报, 2009, 35(4): 776-780.

编辑: 夏海波/接受日期: 2012-11-01

(上接第 1559 页)

通过对弱精症患者精液氧化损伤的评价,证实本课题最初的假设:弱精症患者精液中,存在由于 DJ-1 降低而导致的氧化损伤,进而引发精子活力下降,这可能是弱精症发病的分子机制之一。

[参 考 文 献]

[1] SHARLIP ID, JAROW JP, BELKER AM *et al.* Best practice policies for male infertility[J]. *Fertil Steril*, 2002, 77(5): 873-882.

[2] KLINEFELTER GR, LASKEY JW, FERRELL J *et al.* Discriminant analysis indicates a single sperm protein (SP22) is predictive of fertility following exposure to epididymal toxicants[J]. *J Androl*, 1997, 18(2): 139-150.

[3] YOSHIDA K, SATO Y, YOSHIKE M *et al.* Immunocytochemical localization of DJ-1 in human male reproductive tissue[J]. *Mol Reprod Dev*, 2003, 66(4): 391-397.

[4] WANG J, WANG J, ZHANG HR *et al.* Proteomic analysis of seminal plasma from asthenozoospermia patients reveals proteins that affect oxidative stress responses and semen quality[J]. *Asian J Androl*, 2009, 11(4): 484-491.

[5] AN CN, JIANG H, WANG Q *et al.* Down-regulation of DJ-1 protein in the ejaculated spermatozoa from Chinese asthenozoosper-

mia patients[J]. *Fertil Steril*, 2011, 96(1): 19-23.

[6] ZHOU W, FREED CR. DJ-1 up-regulates glutathione synthesis during oxidative stress and inhibits A53T alpha-synuclein toxicity[J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(52): 43150-43158.

[7] WANG Z, LIU J, CHEN S *et al.* DJ-1 modulates the expression of Cu/Zn-superoxide dismutase-1 through the Erk1/2-Elk1 pathway in neuroprotection[J]. *Ann Neurol*, 2011, 70(4): 591-599.

[8] 毛巍, 张丹, 王成芳, 等. 氧化应激性损伤对不育男性精子功能的影响[J]. 四川大学学报: 医学版, 2010, 23(4): 43-44.

[9] VENKATESH S, SHAMSI MB, DUDEJA S *et al.* Reactive oxygen species measurement in neat and washed semen: comparative analysis and its significance in male infertility assessment[J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2011, 283(1): 121-126.

[10] 王明臣, 苑中甫, 宋良, 等. 男性不育患者精浆超氧化物歧化酶同工酶活力和丙二醛含量的研究[J]. 上海医学, 2004, 27(1): 39-40.

[11] WANG X, LIU N. Sperm DNA oxidative damage in patients with idiopathic asthenozoospermia[J]. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, 2012, 37(1): 100-105.

[12] 王娟, 李菁, 朱伟杰. 植物源性抗氧化剂对氧化应激损伤精子的保护作用[J]. 生殖与避孕, 2011, 31(4): 255-259.

编辑: 周卓/接受日期: 2013-05-14





论文专家

论文写作，论文降重，
论文格式排版，论文发表，
专业硕博团队，十年论文服务经验



硕博团队
写作
服务

SCI期刊发表，论文润色，
英文翻译，提供全流程发表支持
全程美籍资深编辑顾问贴心服务

免费论文查重：<http://free.paperyy.com>

3亿免费文献下载：<http://www.ixueshu.com>

超值论文自动降重：http://www.paperyy.com/reduce_repetition

PPT免费模版下载：<http://ppt.ixueshu.com>

阅读此文的还阅读了：

- [1. Diagnostic accuracy of Focused Abdominal Sonography for Trauma in blunt abdominal trauma patients in a trauma centre of Hong Kong](#)
- [2. 射频消融术治疗房颤10问](#)
- [3. 46, XY, t \(3; 18\) 易位染色体异常核型导致胎儿畸形](#)
- [4. CASA法对支原体阳性患者精液指标的观察研究](#)
- [5. Coccygectomy for stubborn coccydynia](#)
- [6. Assessment of bone turnover and bone quality in type 2 diabetic bone disease: current concepts and future directions](#)
- [7. 车辆对路面损伤的全概率评价](#)
- [8. 肾脏病患者尿 \$\alpha\$ 1-m的测定](#)
- [9. 我国优秀男子排球运动员运动损伤的调查与分析](#)
- [10. 隐形义齿患者评价临床分析](#)
- [11. Neuropsychological study of patients with obsessive-compulsive disorder and their parents in China: searching for potential endophenoty](#)
- [12. Duloxetine versus placebo in the treatment of patients with generalized anxiety disorder in China](#)
- [13. 基层医院住院患者对护理行为关怀性评价的调查与分析](#)
- [14. 补肾调肝方对特发性少弱精症患者精液锌影响的临床观察](#)
- [15. 住院患者对医院满意度的评价研究](#)
- [16. 中国优秀沙滩排球运动员运动损伤发生率及预防对策研究](#)

17. [双酚A对成年雌性大鼠心功能影响](#)
18. [Evaluation of the asynchronization and function of the left ventricle in patients with chronic pulmonary hypertension by velocity vector im](#)
19. [Evaluation of the optimal field arrangement for conformal radiotherapy for prostate cancer patients](#)
20. [心脏手术患者术前访视方法的改进](#)
21. [DNA氧化损伤产物及其检测方法](#)
22. [一种反渗透膜的氧化情况的染料判定方法 \(CN103551045\)](#)
23. [振动病患者的心脏损害](#)
24. [经鼻气管插管抢救呼吸衰竭6例](#)
25. [Real world clinical performance of the zotarolimus eluting coronary stent system in Chinese patients: a prospective, multicenter registry stu](#)
26. [精液无气味警惕前列腺](#)
27. [狼疮肾炎患者氧化损伤及抗氧化功能的评价](#)
28. [基于患者视角的公立医疗机构公益性评价](#)
29. [损伤性血气胸围手术期的护理](#)
30. [麻醉剂的发明权](#)
31. [Prognosis in prolonged coma patients with diffuse axonal injury assessed by somatosensory evoked potential](#)
32. [中国发生的激光事故](#)
33. [钢筋混凝土桥梁检测与损伤评价](#)
34. [我国优秀男子排球运动员运动损伤的调查与分析](#)
35. [住院患者营养状况评价方法的研究](#)
36. [我国省级男排运动员踝关节损伤的调查研究](#)
37. [氧化性损伤在矽肺发病过程中的作用探讨](#)
38. [中国免费治疗近20万艾滋患者病死率降至一成](#)
39. [comparative evaluation of semen parameters in pre-and post-Hurricane Katrina human population](#)
40. [桥梁检测技术研究及工程运用](#)
41. [Assessment of right ventricular function for patients with rheumatic mitral stenosis by 64-slice multi-detector row computed tomography](#)
42. [Effect of Liandouqingmai Recipe on life quality and vascular endo- thelial injury in patients with coronary heart disease](#)
43. [QDTA/T/EGA/GC在线联同技术 IV.稀丙烯氧化制丙烯醛的多组分催化剂焙烧条件的快速评选](#)
44. [保持时间对FGH95粉末盘材料热/机械疲劳行为与寿命的影响](#)
45. [利用Pr、 Ph判断储集层性质的解释评价方法](#)
46. [Left Ventricular Systolic Intraventricular Flow Field Assessment in Hyperthyroidism Patients Using Vector Flow Mapping](#)
47. [Cardiac function evaluated by Tei index of tissue doppler imaging and brain natriuretic peptide in patients with acute coronary syndrome](#)
48. [Hemodynamic effects and safety of pulmonary angiography in Chinese patients with pulmonary hypertension](#)
49. [试样尺寸对定向合金DZ125热机械疲劳寿命的影响](#)
50. [Effects of Korean Red Ginseng on Semen Parameters in Male Infertility Patients: A Randomized, Placebo-Controlled, Double-Blind Cli](#)