

短期应用左卡尼汀在卵细胞胞质内单精子注射 治疗少弱精子症中的作用

吴正沐, 陆 湘, 王永卫, 孙 健, 陶皆唯, 尹峰华, 程怀瑾

(上海交通大学附属国际和平妇幼保健院生殖中心, 上海 200030)

【摘要】 目的: 观察左卡尼汀短期治疗男性少弱精子症后精液质量的变化及行卵细胞胞质内单精子注射 (intracytoplasmic sperm injection, ICSI) 助孕治疗后的临床结果。 方法: 研究对象为根据 WHO 标准检测精液分析结果为少弱精子症者 129 例, 治疗组 42 例服用左卡尼汀 2 周后应用 ICSI, 对照组 87 例单纯应用 ICSI 助孕技术。对比治疗组患者用药前后精液精子浓度、活动率、(a+b) 级精子百分率、畸形率指标, 治疗组与对照组对比 ICSI 后受精率、卵裂率、有效胚胎率、临床妊娠率。 结果: 治疗组患者治疗后 (a+b) 级精子百分率 (13.5 ± 10.7) % 较治疗前 (9.6 ± 7.2) % 提高 ($P < 0.05$), 治疗组 ICSI 操作后有效胚胎率 77.50%, 明显高于对照组 69.04% ($P < 0.05$)。 结论: 左卡尼汀短期治疗能够改善精子质量, 并有助于少弱精子症患者提高 ICSI 治疗的成功率。

【关键词】 左卡尼汀; 少弱精子症; 不育; 卵细胞胞质内单精子注射

中图分类号: R698⁺.2 文献标志码: A 文章编号: 1009-3591 (2012) 03-0253 04-

Short-term medication of L-carnitine before intracytoplasmic sperm injection for infertile men with oligoasthenozoospermia

WU Zheng-mu, LU Xiang, WANG Yong-wei, SUN Jian, TAO Jie-wei, YIN Feng-hua, CHENG Huai-jin

Department of Reproductive Medicine, International Peace Maternity and Child Health Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200030, China

【Abstract】 Objective: To observe the pregnancy promoting effect of L-carnitine combined with intracytoplasmic sperm injection (ICSI) in treating male infertility with oligoasthenozoospermia. **Methods:** We assigned 129 patients with oligoasthenozoospermia to receive 2 weeks of oral L-carnitine followed by ICSI (medication group, $n = 42$) and ICSI alone (control group, $n = 87$). We compared the sperm concentration and motility, the percentage of grade a + b sperm, and sperm deformity before and after L-carnitine medication, as well as the rates of fertilization, cleavage, available embryo and clinical pregnancy between the two groups. **Results:** The percentage of grade a + b sperm was significantly increased after L-carnitine medication as compared with the baseline ([13.5 ± 10.7] % vs [9.6 ± 7.2] % , $P < 0.05$), and so was the rate of available embryo in the medication group after ICSI in comparison with that of the control group (77.50% vs 69.04% , $P < 0.05$). **Conclusion:** Short-term medication of L-carnitine can improve sperm quality and raise the success rate of ICSI. *Natl J Androl*, 2012, 18 (3): 253-256

【Key words】 L-carnitine; oligoasthenozoospermia; infertility; intracytoplasmic sperm injection

Correspondence to: WU Zheng-mu, email: wuzhengmu@126.com

Received: December 27, 2010; accepted: December 5, 2011

① 作者简介: 吴正沐 (1979-) 男, 福建漳州市人, 主治医师, 硕士, 从事男科学专业。

通讯作者: 吴正沐, Email: wuzhengmu@126.com

对于严重少弱精子症不育患者,国内外普遍应用卵细胞胞质内单精子注射(intracytoplasmic sperm injection, ICSI)辅助生殖技术治疗。ICSI是在显微镜下将单个精子注射到卵母细胞内完成受精的操作,如何使人工挑选的精子注射后胚胎发育情况及妊娠结局达到最佳一直备受关注。精子成熟过程中在附睾停留2周左右,在肉碱等物质辅助下获得运动能力。左卡尼汀的主要成分为左旋肉碱,该成分大量存在于人类附睾内,对精子运动、获能和受精起积极作用。2008年1月至2009年12月,笔者对因男性少弱精子症不育而行ICSI助孕的患者,在女方促排卵同时,给予男方短期2周左右的左卡尼汀药物治疗,希望通过提高该时段附睾内精子成熟环境中的肉碱浓度,对精子质量以及ICSI助孕结局有所帮助,现将临床结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 研究对象为2008年1月至2009年12月在国际和平妇幼保健院生殖医学中心行ICSI助孕的少弱精子症患者129例。纳入标准:①婚后同居1年以上,未采取任何避孕措施而未孕者。②按《WHO人类精液及精子宫颈黏液相互作用实验室检验手册》第4版标准进行2次常规精液分析结果,选择精子浓度 $<10 \times 10^6/\text{ml}$ 且a+b级精子百分率 $<30\%$ 者^[1]。③进入周期后受精方式为ICSI。④女方身体健康,超排卵后卵巢反应良好,获卵数 ≥ 5 枚。排除标准:①合并心血管、肝、肾和造血系统严重原发性疾病,精神病患者;过敏体质或对本药有过敏者;应用其他药物治疗不育者;未按规定用药或资料不全;②女方超排卵后卵巢反应差,卵子大量畸形。

1.2 方法

1.2.1 分组 将129例患者随机分为2组,治疗组42例,年龄25~44岁,平均 (32.61 ± 4.31) 岁;不育时间1~9年,平均 (3.48 ± 2.74) 年。对照组87例,年龄24~38岁,平均 (33.44 ± 4.47) 岁;不育时间1~14年,平均 (4.69 ± 3.52) 年。两组患者资料经统计学处理差异无显著性,具有可比性。

1.2.2 治疗方法 治疗组治疗前两周要求患者停用其他治疗不育的药物,并要求戒烟戒酒。女方促排卵治疗的当天,一般为女方月经来潮第二天,男方开始每天早中晚3次服用左卡尼汀口服液,每次1支,产品规格为10 ml:1.0 g左旋肉碱(商品名:东维力,批准文号:国药准字H19990372,东北制药集团沈阳第一制药有限公司)。连续服用至女方卵泡发育成熟

进行取卵手术,同时男方取精,用药周期一般为2周左右。对照组要求不服用任何治疗不育的药物。

1.2.3 ICSI辅助技术 女方常规选择长方案降调节,即月经来潮后21 d左右应用促性腺激素释放激素类似物(gonadotropin releasing hormone, GnRH-a)激动剂皮下注射,进行降调节。降调节后下1个月经周期第2~5天开始应用rFSH或尿促性腺激素(human menopausal gonadotropin, HMG)肌肉注射促排卵,监测卵泡发育大小与内膜厚度,待卵泡发育成熟后肌肉注射hCG,36 h后取卵,拆卵后记录M II期的卵子数。女方取卵当天男方取精,对精子行密度梯度离心法优化处理后,高倍显微视野下挑选形态和活动率最好的精子行ICSI,24 h后观察胚胎受精、卵裂情况,72 h后进行胚胎评级,记录有效胚胎数,并选择优质胚胎进行胚胎移植,移植后每天应用黄体酮80 mg进行黄体支持。两周后随访检测血-hCG或尿hCG,如血 β hCG和尿hCG阳性后两周行超声检查确认是否临床妊娠。如未成功,有冷冻胚胎者休息1个月后进行冻胚移植,统计累计移植后妊娠数。

1.2.4 检测指标 ①精子常规指标检测:要求禁欲3~7 d后取精。手淫法采集精液于干燥塑料杯内,置37℃恒温箱内液化。由经验丰富的检验员采用计算机辅助精液分析技术(SQA-V,以色列全自动精子质量分析仪)全套分析精子浓度、精子活动率、a+b级精子百分率及精子畸形率参数。②胚胎评价指标:记录发育至M II期的卵子数、雌雄原核受精卵(2PN)数、卵裂数、有效胚胎数,计算受精率(2PN/M II)、卵裂率(卵裂数/2PN)、有效胚胎率(可用胚胎数/卵裂数),并随访受孕情况包括新鲜移植和冻胚移植周期,计算累计妊娠率。

1.3 统计学分析 所得数值以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS 11.0软件对结果进行分析,以 $P < 0.05$ 为差别有统计意义。治疗后与治疗前精液质量的比较用t检验进行比较,胚胎发育情况率的比较用 χ^2 检验。

2 结果

治疗组1例因怀疑用药导致腹泻自行减量,予以排除。另有2例女方取卵后拆卵发现卵子严重畸形也予排除。治疗期间无严重不良事件发生。左卡尼汀治疗前和治疗后行ICSI当日精液分析结果比较,(a+b)级精子百分率治疗组治疗后比治疗前显著增加,差异有显著性($P < 0.05$)。精子浓度、精子活动率和畸形率治疗前后比较差异无统计学意义。见表1。与对照组比较,治疗组有效胚胎率显著升

高($P < 0.05$); 受精率, 卵裂率及临床妊娠率两组比较差异无统计学意义。见表2、3。

表1 治疗组治疗前、后精液分析结果比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1. Comparison of semen parameters before and after L-carnitine medication ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	Sperm conc ($\times 10^6$ /ml)	Sperm motility (%)	Grade a + b sperm (%)	Sperm deformity (%)
Pret-medication	42	6.6 \pm 3.5	13.5 \pm 8.5	9.6 \pm 7.2	32.8 \pm 17.6
Post-medication	41	6.8 \pm 4.2	15.3 \pm 12.7	13.5 \pm 10.7*	33.7 \pm 25.1

与治疗前相比, * : $P < 0.05$

* : $P < 0.05$ versus premedication.

表2 两组患者卵子受精、胚胎发育情况比较

Table 2. Comparison of the rates of fertilization, cleavage, and available embryo between the L-carnitine medication and control groups

Group	n	Fertilization rate			Cleavage rate			Available embryo rate		
		2PN	M II	(%)	Cleavage	2PN	(%)	Embryo	Cleavage	(%)
Medication	39	203	248	81.85	200	203	98.52	155	200	77.50
Control	87	420	524	80.15	407	420	96.90	281	407	69.04*

与对照组相比, * : $P < 0.05$

* : $P < 0.05$ versus the control.

表3 两组患者临床妊娠情况比较

Table 3. Comparison of the clinical pregnancy rate between the medication and control groups

Group	n	Clinical pregnancy, n (%)
Medication	39	15 (38.46)
Control	87	26 (29.89)

3 讨论

左卡尼汀即左旋肉碱主要功能是促进脂类代谢。他既能将长链脂肪酸带进线粒体基质,并促进其氧化分解,为细胞提供能量,又能将线粒体内产生的短链脂酰基输出。人体内附睾内左卡肉碱通过特异性载体主动转运进行蓄积,局部的浓度高达血液中的1 000倍,并且在附睾内的浓度,是从头到尾是逐渐增加的。睾丸内新形成的精子尚不成熟,在附睾中依赖雄激素的作用,随着左旋肉碱浓度的递增而逐步成熟,继而获得运动能力和受精能力。研究证实:附睾中的精子主要通过脂肪酸氧化作为其能量代谢的主要来源,帮助精子的运动和成熟。而当附睾尾高浓度肉碱形成后,又可以抑制精子运动,避免精子能量无谓消耗^[2]。Lenzi等^[3]通过对100例男性不育患者的随机双盲对照试验证实,经过连续2个月的左旋肉碱治疗后,精子的浓度、活动率,特别是前向运动精子数量明显提高。国内师娟子等^[4]利用单细胞裂解法从添加肉碱前后的精子样

本中提取RNA后进行RT-PCR检测,证实精子相关特异性基因表达上调,表明肉碱可能参与精子代谢,继而增加了精子的活力。

本研究比较患者短期应用左卡尼汀治疗前后基本精子质量指标变化情况,结果表明用药后精子前向运动数量有明显改善,除此之外,本研究还发现,少弱精子症患者应用左卡尼汀短期治疗后行ICSI后,有效胚胎数明显提高,从表面数据看到累计妊娠率有相对提高,但治疗例数较少,统计学上未表现出差异,有待进一步积累病例数。

ICSI辅助受精后的胚胎发育情况与精子的质量之间的关联情况目前处于研究阶段。对精子常规参数的研究中,不少作者^[5-6]认为精子的活动能力及形态与ICSI受精率无相关性,而有作者^[7]认为必须把精子的浓度、活动率以及其他临床因素和形态学联合在一起考虑。随着分子生物学研究的深入,越来越多的学者^[8-9]认识到精子核结构对于受精及胚胎发育潜能及种植率、妊娠率的影响。其中,活性氧(ROS)是精子DNA损伤的主要因素,不仅直接导致精子DNA产生单链或双链的断裂,造成精子DNA损伤,而且使精子膜发生脂类过氧化反应失去流动性,改变内环境,最后导致精核DNA变异或断裂。肉碱的抗氧化作用,能清除组织内ROS,保护精子细胞免遭氧化损伤,减少精子细胞DNA结构的损伤^[10]。Balercia等^[11]选择精浆的总氧自由基清除能力(TOSC)作为评价氧化应激的指标,该研究结果显

示,肉碱治疗组服药前后 TOSC 的差异有统计学意义,且 TOSC 的增加与精子总活动率、前向活动精子率的改善呈正相关。这可能是左卡尼汀治疗后胚胎质量提高的原因。

临床研究证实肉碱类药物单独使用或联合其他药物使用对于少弱精子症的治疗是安全有效的^[12]。从生物化学角度来说,肉碱类物质的成分为人体内正常存在的,对于后代的发育生长是无害的。在辅助生育女方治疗的同时,给予男方短期的强化治疗,因为用药时间短,患者的用药依从性很高。从治疗效果上看,精子质量改善是明显的。对辅助生育而言,有效胚胎数的增加,意味着患者在相同促排卵的情况下有更多的胚胎可以移植,累计成功的机率更大。虽然在本研究中因例数有限,数据上成功率的差异未表现出统计学意义,但积极而无害的男性方面的配合治疗对辅助生育还是还有帮助的。

参考文献

- [1] 陈振文,谷龙杰,卢少明.男科在辅助生殖技术中的职责和作用.中国男科学杂志,2009,23(1):2-5.
- [2] Ng CM,Blackman MR,Wang C,et al. The role of carnitine in the male reproductive system. Ann N Y Acad Sci,2004,1033:177-188.
- [3] Lenzi A,Sgrò P,Salacone P,et al. A placebo-controlled double blind randomized trial of the use of combined L-carnitine and L-acetyl-carnitine treatment in men with asthenozoospermia. Fertil Steril,2004,81(6):1578-1584.
- [4] 师娟子,张姗姗,张洲,等.梗阻性无精子症患者睾丸精子左旋肉碱培养后关键基因表达量的变化研究.中华男科学杂志,2010,16(6):504-509.
- [5] Koppers B,Gassner P,Meschede D,et al. Prognostic value of male diagnostic profiles in intracytoplasmic sperm injection (ICSI). Int J Androl,1998,21(4):227-232.
- [6] Nagy ZP,Verheyen G,Tournaye H,et al. Special applications of intracytoplasmic sperm injection: The influence of sperm count, motility, morphology, source and sperm antibody on the outcome of ICSI. Hum Reprod,1998,13(Suppl1):143-154.
- [7] Guzik DS,Overstreet JW,Factor-Litvak P,et al. Sperm morphology, motility and concentration in fertile and infertile men. N Engl J Med,2001,345(19):1388-1393.
- [8] 王晓萌,刘睿智.精子DNA损伤对生殖结局的影响及其临床意义.中华男科学杂志,2008,14(11):1019-1022.
- [9] Zini A,Boman JM,Belzile E,et al. Sperm DNA damage is associated with an increased risk of pregnancy loss after IVF and ICSI: Systematic review and meta-analysis. Hum Reprod,2008,23(12):2663-2668.
- [10] Bucak MN,Tuncer PB,Sarözkan S,et al. Effects of antioxidants on post-thawed bovine sperm and oxidative stress parameters: Antioxidants protect DNA integrity against cryodamage. Cryobiology,2010,61(3):248-253.
- [11] Balercia G,Regoli F,Armeni T,et al. Placebo-controlled double-blind randomized trial on the use of L-carnitine, L-acetylcarnitine, or combined L-carnitine and L-acetylcarnitine in men with idiopathic asthenozoospermia. Fertil Steril,2005,84(3):662-671.
- [12] Moradi M,Moradi A,Alemi M,et al. Safety and efficacy of clomiphene citrate and L-carnitine in idiopathic male infertility: A comparative study. Urol J,2010,7(3):188-193.

(收稿日期:2010-12-27;接受日期:2011-12-05)

(本文编辑:黄婷婷)