

左旋肉碱在经皮附睾穿刺取精-卵细胞胞质内单精子注射治疗中的应用

卢少明, 李 晓, 张浩波, 胡京美, 颜军浩, 刘蛟龙, 陈子江

(山东大学附属省立医院生殖医学中心, 山东省生殖医学重点实验室, 山东 济南 250021)

【摘要】 目的: 探讨左旋肉碱在经皮附睾穿刺取精-卵细胞胞质内单精子注射 (PESA-ICSI) 治疗中的应用。方法: 随机将 2008 年 9 月至 2009 年 8 月间本中心就治的 79 例梗阻性无精子症患者分成 2 组: 未服药组 (A 组 36 例) 和服药组 (B 组 43 例)。B 组 ICSI 治疗取卵前 3 个月口服左旋肉碱 (1 g 2 次/d) 治疗, A 组未作任何治疗作为对照, 比较 A、B 两组间 PESA-ICSI 的获卵数、受精数、受精率、优质胚胎数和优质胚胎率。结果: A、B 两组间受精数和受精率无显著性差异, 但 B 组获得优质胚胎数及优质胚胎率明显高于 A 组 ($P < 0.05$)。结论: ICSI 治疗前不育男性口服左旋肉碱 3 个月能显著提高 PESA-ICSI 的优质胚胎数及优质胚胎率, 为将来获得良好的妊娠结局奠定基础。

【关键词】 左旋肉碱; 梗阻性无精子症; 经皮附睾穿刺取精-卵细胞胞质内单精子注射

中图分类号: R256.56 文献标志码: A 文章编号: 1009-3591(2010)10-0919-03

Use of L-carnitine before percutaneous epididymal sperm aspiration-intracytoplasmic sperm injection for obstructive azoospermia

LU Shaoming, LI Xiao, ZHANG Haobo, HU Jingmei, YAN Junhao, LIU Jiaolong, CHEN Zijiang
Reproductive Medical Center / Key Laboratory of Reproductive Medicine, Provincial Hospital Affiliated to Shandong University, Jinan, Shandong 250021, China

【Abstract】 Objective: To explore the use of L-carnitine before percutaneous epididymal sperm aspiration-intracytoplasmic sperm injection (PESA-ICSI) in the treatment of obstructive azoospermia. Methods: Seventy-nine cases of obstructive azoospermia treated in our center from Sep 2008 to Aug 2009 were divided into an L-carnitine ($n = 43$) and a control group ($n = 36$), the former given oral L-carnitine at 1 g bid for 3 months before PESA-ICSI while the latter left untreated. Comparisons were made between the two groups in the number of retrieved oocytes and fertilized oocytes as well as the number and rate of good embryos. Results: There were no significant differences between the two groups in the number of retrieved oocytes and fertilized oocytes. But the number and rate of good embryos were significantly higher in the L-carnitine than in the control group ($P < 0.05$). Conclusion: Three-month oral medication of L-carnitine before PESA-ICSI can raise the number and rate of good embryos in obstructive azoospermia patients and therefore benefit the therapeutic outcome. Natl J Androl 2010; 16(10): 919-921

【Key words】 L-carnitine; obstructive azoospermia; percutaneous epididymal sperm aspiration-intracytoplasmic sperm injection

Correspondence to: CHEN Zijiang, email: zjchen59@hotmail.com

Received: December 27, 2009; accepted: June 15, 2010

*作者简介: 卢少明 (1968-), 男, 广西南宁市人, 副主任医师, 医学博士, 从事男性生殖工作。Email: lsming110@163.com

通讯作者: 陈子江, Email: zjchen59@hotmail.com

经皮附睾穿刺取精 卵细胞胞质内单精子注射 (PESA-ICSI)是治疗梗阻性无精子症的主要手段之一, PESA-ICS的受精率、优质胚胎率乃至妊娠结局不仅与卵子质量有关, 也与取卵当日从附睾中穿刺获得的精子质量有关。我们通过 ICS治疗前给予男性患者口服左旋肉碱 3个月, 借此提高附睾穿刺获得的精子质量, 达到提高 PESA-ICS妊娠结局的目的, 取得了较好的效果, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床分组 将 2008 年 9月至 2009 年 8月间进入本中心 PESA-ICS治疗的 79例梗阻性无精子症患者随机分成 2组: A组 36例, 年龄 (31.0±5.6)岁, 不育时间 (4.7±2.4)年, 其女性配偶年龄 (29.3±4.3)岁, 取卵前未做任何治疗作为对照; B组 43例, 年龄 (29.7±4.6)岁, 不育时间 (4.2±2.7)年, 其女性配偶年龄 (29.2±4.6)岁, 取卵前 3个月口服左旋肉碱 (东维力, 东北制药, 1 g 2次/d)治疗。梗阻性无精子症的诊断包括: 常规精液分析至少 2次未见精子, 精浆果糖和中性 α 葡萄糖苷酶检测异常, 血清性激素正常, 睾丸大小发育正常, 经皮附睾穿刺获得精子确定。

1.2 控制性超促排卵 于月经的第 3~5 d开始给予卵泡刺激素 (Gona-F 瑞士 Serrono公司生产), 起始剂量为 150~225 U/d肌肉注射, 于促排卵第 5 d开始经阴道 B超检查及血清雌二醇 (E₂)水平监测卵泡发育情况, 当至少有 2个卵泡直径≥18 mm时肌肉注射绒毛膜促性腺激素 (hCG 瑞士 Serrono)

10 000 U 于注射 hCG后 36 h在阴道 B超引导下进行卵泡穿刺取卵。

1.3 卵子的准备 将取出的卵冠丘放在含 10%合成血清替代品 (synthetic serum substitute SSS)的人输卵管液 (modified human tubal fluid mHTF)中冲洗 2次, 后置于其中培养 3~4 h然后在含 80 IU/ml的透明质酸酶 (Sigma 美国)的 mHTF中用自制的毛细玻璃管反复吹打去除颗粒细胞。将已消化好的卵子放回 37℃、5% CO₂的培养箱中培养, 并在 1 h内进行 ICS操作。

1.4 精子准备 附睾取精的精子采用直接离心法, 根据精子情况上游或从沉渣中直接寻找精子。

1.5 ICS操作过程 将卵子放于 37℃矿物油覆盖的 mHTF微滴中。选择 MII 期卵子进行 ICS。

1.6 受精及胚胎的评价 ICS后 16~18 h在倒置显微镜下观察卵子受精情况, 见到两个原核为正常受精, ICS后 40~48 h观察胚胎分裂情况, 胚胎分级按照 Puissan的标准进行, 其中评分为 3~4分者为优质胚胎。

1.7 统计学分析 采用 SPSS 11.0对相关指标进行方差齐性检验, 计量资料采用独立样本 t 检验、计数资料采用 χ²检验, P<0.05为差异有显著性。

2 结果

A、B两组间 ICS受精数和受精率无显著性差异, 提示两组间 ICS技术操作无明显差别。但 B组获得优质胚胎数及优质胚胎率明显高于 A组 (P<0.05), 见表 1。

表 1 A、B两组间各相关结果的比较 (x±s)

Table 1 Comparison of therapeutic outcomes between the control and L-carnitine groups (x±s)

| Group | n | No. of eggs | No. of inseminations | Insemination rate (%) | No. of quality embryos | Quality embryo rate (%) |
|-------------|----|-------------|----------------------|-----------------------|------------------------|-------------------------|
| Control | 36 | 12.2±5.7 | 10.7±6.0 | 85.9±15.6 | 5.7±3.4 | 52.3±15.8 |
| L-carnitine | 43 | 12.3±6.6 | 10.5±5.7 | 86.3±11.8 | 7.4±4.0* | 75.0±19.9* |

与对照组比较, *: P<0.05
*: P<0.05 versus the control

3 讨论

在男性和雄性动物的生殖道中, 肉碱主要是通过肉碱转运蛋白以主动转运方式从血液中摄取, 以游离和乙酰化的左旋肉碱形式蓄积, 最终进入到精子中, 影响着精子的代谢和成熟过程^[1-2]。睾丸中生成的精子虽形成基本结构, 但没有运动和受精能力,

必须在附睾中发育成熟^[3]。左旋肉碱作为转运脂肪酸进入线粒体的重要载体, 主要功能是把脂酰辅酶 A从线粒体外膜转入线粒体基质进行 β 氧化。即将原本不能自由穿越线粒体膜的长链脂肪酸, 从线粒体外的活化位点转运到线粒体基质内的氧化位点, 完成 β 氧化和三羧酸循环, 产生三磷酸腺苷为精子提供能量, 促进和调节精子的发育成熟。同

时,调节和维持线粒体基质中 CoA/乙酰 CoA的比值,防止乙酰 CoA对细胞的损伤^[4-5]。随着精子从附睾头部运动至尾部,精子内左旋肉碱的含量不断增加,促进了精子的运动与成熟。此外,左旋肉碱作为一种有效的活性氧(ROS)清除剂,在缓解氧化应激、减少脂质过氧化、阻断氧自由基介导的细胞凋亡等过程中具有明显的保护作用。因此,左旋肉碱具有参与精子能量代谢、降低精浆中 ROS稳定精子细胞膜、抗精子凋亡等作用^[6]。

口服左旋肉碱能显著提高血浆中左旋肉碱水平,增加附睾对左旋肉碱的摄取,达到改善其精子的动力学和形态学特性^[7]。Lenz等^[8]观察了左旋肉碱和乙酰左旋肉碱对少、弱、畸精子症不育男性的联合治疗作用,发现服药组精子质量较对照组有明显的提高,且精子活力初值较低的患者通过左旋肉碱和乙酰左旋肉碱的联合治疗后精子活力也有所增加。对特发性弱精子症和附睾结节伴弱精子症患者补充左旋肉碱后,也获得了满意的治疗效果。

PESA-ICS是治疗梗阻性无精子症的有效手段,其治疗效果与附睾内获取的精子质量密切相关。梗阻性无精子症患者精浆果糖、中性 α 葡萄糖苷酶和弹性蛋白酶大多异常,提示附睾分泌功能下降,精浆中左旋肉碱含量减少,并伴有男性附属性腺炎症。由于精子长时间停留在附睾中,精子凋亡增加,产生过多的 ROS加上梗阻附睾局部炎症,又会进一步减少附睾分泌功能,增加 ROS造成附睾取出的精子往往活动力不佳,甚至没有活动力,影响 PESA-ICS的治疗效果。口服左旋肉碱既能增加肉碱在附睾局部的浓度,促进附睾内精子的成熟,又能帮助清除局部炎症所产生的有效 ROS对精子的损害,因而能增加附睾内获取精子的活力和质量。王浩飞等^[9]报道口服左旋肉碱能显著提高 PESA精子的总活动率约 5%,前向运动精子率约 1.8%。我们在使用左旋肉碱治疗 PESA-ICS男性患者中,发现药物治疗组附睾内获得的精子活动力及形态质量要优于非药物组。由于患者经附睾穿刺获取的精子浓度、活动率等指标差异明显,最少为 0~1/HP 最多达 $20 \times 10^6/\text{m}$ 以上,故本研究未做两组间获得的附睾精子浓度等相关数值的差异性分析。但我们通过 ICS治疗,发现两组的受精率无明显差异,说明两组

ICS操作无差异,而药物治疗组获得的优质胚胎数及优质胚胎率要明显高于非药物组,因两组获卵量无差异,提示前者获得的精子质量要优于后者。可见通过口服左旋肉碱能促进附睾内精子的活动力和质量,为 PESA-ICS提供更多可供使用的优质精子,从而为最终获得良好的妊娠结局奠定基础。

参考文献

- [1] Sjöman M, Glass S, Campagnone J, et al. Camitine for the treatment of idiopathic asthenospermia: A randomized double-blind placebo-controlled trial. *Fertil Steril* 2006; 85(5): 1409-1414.
- [2] Zhou X, Liu F, Zhai S. Effect of L-carnitine and/or L-acetyl-carnitine in nutrition treatment for male infertility: A systematic review. *Asia Pac J Clin Nutr* 2007; 16(Suppl 1): 383-390.
- [3] 李克,李伟,黄宇烽等.精浆游离 L肉毒碱水平及其与精子密度、活动率及活力的相关性研究. *中华男科学杂志*, 2007; 13(2): 143-146.
Li K, Li W, Huang YF, et al. *Zhonghua Nan Ke Xue Za Zhi* 2007; 13(2): 143-146.
- [4] 唐凌峰,姜辉,商学军等.精浆左旋肉碱与精子密度、活力和活动率关系的研究. *中华男科学杂志*, 2008; 14(8): 704-708.
Tang LF, Jiang H, Shang XJ, et al. *Zhonghua Nan Ke Xue Za Zhi* 2008; 14(8): 704-807.
- [5] 程怀瑾,陈廷.左旋肉碱和乙酰左旋肉碱复合制剂对特发性弱精子症精子质量的影响. *中华男科学杂志*, 2008; 14(2): 149-151.
Chen HJ, Chen T. *Zhonghua Nan Ke Xue Za Zhi* 2008; 14(2): 149-151.
- [6] 商学军,王修来,黄宇烽.肉碱与男性生殖. *中华男科学杂志*, 2006; 12(8): 726-729.
Shang XJ, Wang XL, Huang YF. *Zhonghua Nan Ke Xue Za Zhi* 2006; 12(8): 726-729.
- [7] 商学军,王修来,黄宇烽.肉碱在男科临床治疗中的研究进展. *中华男科学杂志*, 2006; 12(9): 826-831.
Shang XJ, Wang XL, Huang YF. *Zhonghua Nan Ke Xue Za Zhi* 2006; 12(9): 826-831.
- [8] Lenz A, Sgro P, Sajkane 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.
- [9] 王浩飞,沈健.左卡尼汀对梗阻性无精子症病人附睾精子质量的影响. *中国新药与临床杂志*, 2006; 25(9): 721-723.
Wang HF, Shen J. *Zhongguo Xin Yao Yu Lin Chuang Za Zhi* 2006; 25(9): 721-723.

(收稿日期: 2009-12-27 接受日期: 2010-06-15)

(本文编辑: 史铁超)