

左旋肉碱治疗男子不育症研究进展

龚东明¹ 白双勇² 李 铮¹

(1. 上海交通大学医学院附属仁济医院, 上海市男科学研究所, 上海, 200001)

(2. 云南省计划生育科学研究所, 昆明, 650021)

【摘要】 肉碱(carnitine), 又名卡尼汀或肉毒碱, 人体内具有生物活性的是左旋肉碱(L-carnitine)。左旋肉碱作为转运脂肪酸进入线粒体的重要载体, 具有参与精子能量代谢、降低精浆中活性氧物质、稳定精子细胞膜、抗精子凋亡等作用。附睾内肉碱浓度是血清的 2 000 倍, 为人体含肉碱最高的器官。临床随机双盲研究结果表明, 采用肉碱治疗男子不育症安全有效。附睾内存在着肉碱主动转运系统, 其转运机制有待进一步研究。

关键词: 左旋肉碱; 附睾; 男子不育; 转运机制

中图分类号: R691.5 文献标识码: B 文章编号: 0253-357X(2007)02-0141-04

肉碱(carnitine, 卡尼汀或肉毒碱)是一类维生素物质, 有左旋、右旋两种异构体, 体内具有生物活性的是左旋肉碱(L-carnitine)。自肉碱发现 100 年来, 经多年沉寂后重新被认识, 在许多领域获得应用, 如被广泛用作食品添加剂和运动营养品, 临床用于心脏病、糖尿病、肾脏透析的治疗, 近年尤其用于男子不育症的治疗取得较大进展^[1]。

1 肉碱概述

1905 年俄国科学家 Krimberg 与 Gulcuitsch 从牛肉中提取出肉碱, 用拉丁文命名为 caro 或 caronis(肉或肉食的)。1927 年 Tomita 与 Sendju 确定其化学结构, 化学名称为 3- 羟基-4- 三甲氨基丁酸, 分子式为 $(\text{CH}_3)_3\text{-N}^+\text{-CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{-COO}^-$ 。1952 年 Carter 等将其定名为 carnitine。1959 年 Fritz 发现肉碱作为载体转运脂肪酸进入线粒体, 经 β - 氧化、三羧酸循环提供能量。1973 年第 1 例肉碱缺乏症被发现; 1980

年 Robouche 和 Engel 证明人体可合成肉碱; 1983 年 Hamilton 发现小肠吸收肉碱为主动转运。

人体每天肉碱需要量约为 100-300 mg, 因机体运动、健康状况和应急状态不同而变化。肉碱来源包括食物摄取和体内合成, 其中食物来源的肉碱约占每天需要量的 75%。体内主要合成肉碱的部位是肝、脑、肾脏、睾丸等器官, 体内合成较为复杂, 需要赖氨酸、蛋氨酸、维生素 C、维生素 B₆ 和 Fe^{3+} 等多种物质参与^[2]。人体内肉碱 90% 以上存在于骨骼肌、心肌以及附睾中, 其中附睾为人体含肉碱最高的器官, 1%-6% 存在于肝脏, 1% 存在于细胞外液。肉碱在体内并不被分解, 仅进行代谢性转化。肉碱主要通过肾脏由尿排泄, 小部分由胆汁或乳汁排出体外。

人体内肉碱总量受饮食、肌肉含量、年龄以及性别等影响, 体内总肉碱(total carnitine, TC)包括游离肉碱(free L-carnitine, FC)和脂酰肉碱(esterified-L-carnitine, EC), 其中脂酰肉碱主要以乙酰肉碱(acetyl-L-carnitine, AC)形式存在。牛玉坚等测出我国成年男性血浆 TC、FC 和 AC 分别为 $53.1 \pm$

通讯作者: 李 铮; Tel: +86-21-63732926;
E-mail: z_lee@vip.163.com

8.5 $\mu\text{mol/L}$ 、41.2 \pm 6.1 $\mu\text{mol/L}$ 和 6.2 \pm 0.6 $\mu\text{mol/L}$, 女性血浆 TC、FC 和 AC 分别为 45.4 \pm 5.6 $\mu\text{mol/L}$ 、35.2 \pm 4.9 $\mu\text{mol/L}$ 和 5.7 \pm 0.7 $\mu\text{mol/L}$ ^[3]。在人类附睾液中, 肉碱以游离左旋肉碱和乙酰左旋肉碱存在。

2 肉碱转运机制

对大鼠的研究表明, 肉碱在附睾液中的浓度为 30–50 mmol/L, 血液为 25 $\mu\text{mol/L}$, 在附睾液中的浓度比血浆中的浓度高出 2 000 倍以上^[4], 而附睾上皮没有合成肉碱的酶, 不能由附睾本身合成, 但是附睾上皮能够将血浆中的肉碱主动转运到附睾管腔中。这种转运主要在附睾头部的远端和体部, 使得附睾中肉碱的含量从附睾头至附睾尾部的浓度逐渐升高, 该转运机制为雄激素依赖性^[5]。

近期有研究指出^[6–8], 在体内组织细胞膜上存在着一种肉碱主动转运体系, 名为有机阳离子转运子家族(OCTN), 包括 OCTN1、OCTN2 和 OCTN3。OCTN1 与左旋肉碱亲和力低, 广泛存在于许多组织中; OCTN3 是左旋肉碱的高亲和力转运子, 在睾丸中有高表达, 推测其功能主要调节睾丸中左旋肉碱的转运; OCTN2 在附睾头、体部表达最高, 可能是附睾转运左旋肉碱的主要转运蛋白之一。然而, 附睾中左旋肉碱的作用并未完全阐明, 其具体的转运机制尚不得而知。

2003 年 Xuan 等报道^[9], 在人类精子膜蛋白组中存在 hOCTN 蛋白家族, 对其转运肉碱机制进行研究, Western blot 发现人类精子膜上存在 OCTN1、OCTN2 及 OCTN3 三种不同肉碱转运蛋白, 分子量约 63 kD, 精子膜并不允许肉碱自由通过, 而由 OCTN 转运系统所完成。但未对 OCTN 蛋白家族的来源进行研究, 有待进一步研究以明确人类精子 OCTN 的来源, 探讨附睾对肉碱的具体转运机制, 以及 OCTN 转运肉碱障碍对精子成熟的影响。

3 肉碱与男性不育症关系的研究

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, 对调节机体脂类和糖代谢具有十分重要的作用, 临床上用于许多疾病的治疗取得了很好的效果^[1,10]。肉碱还参与精子的运动

和成熟过程, 精浆对精子运动、能量代谢、获能和受精有至关重要的作用, 而附睾所分泌的左旋肉碱和乙酰左旋肉碱, 对精子运动和成熟有直接影响^[11]。肉碱参与精子能量代谢、降低精浆中活性氧物质(reactive oxygen species, ROS)、稳定精子细胞膜、抗精子凋亡, 临床应用可提高精子活力和密度等, 提高女方妊娠率, 成为药物治疗男子不育症的重要突破之一^[12]。

3.1 肉碱与精子细胞膜的稳定及精子形态结构的变化

从附睾头部至尾部, 随着精子的逐渐成熟, 在肉碱的参与作用下, 精子细胞膜上脂类的总含量逐渐减少, 胆固醇、磷脂比率、饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸比率明显升高, 通过脂膜成分和结构的改变, 使附睾成熟精子膜的流动性减少, 稳定性增加, 其结果是精子膜保持适当的流动性, 这对精子功能尤其是对精卵结合十分重要^[11]。

在附睾运行过程中, 精子的形态结构亦进一步变化, 精子的脂质小滴逐渐向末端移动, 直到最后完全脱落^[13]。附睾精子胞质小滴的移行和脱落有种属差异, 研究发现在美洲骆驼附睾中, 脂质小滴的移动是在附睾体部远端完成。并且观察到在脂质小滴的移行过程中, 有着类似精子鞭毛中断弯曲的特征; 而在猕猴精子的附睾移行过程中, 胞质小滴向尾部移行, 并且脂质小滴的移行与精子运动密切相关。在精子脂质小滴的脱落过程, 主要是通过脂酰肉碱转移酶的协助完成的^[9]。

3.2 肉碱与精子能量代谢

在睾丸中生成的精子基本结构已形成, 但没有运动和受精能力, 必须在附睾中发育成熟^[14]。而附睾精子运动能力的获得与多种因素有关^[15]。实验证明诱导精子出现运动能力的地点与附睾上皮活跃转运肉碱的地点一致, 提示肉碱与精子运动的诱导有关^[14]。

近年研究表明, 附睾精子主要依靠长链脂肪酸和磷脂等物质在线粒体内 β -氧化供能, 但脂肪酸不能直接透过线粒体内膜, 必须由肉碱转运^[1,16]。左旋肉碱和乙酰左旋肉碱不但转运脂肪酸和磷脂进入线粒体内, 而且也是将脂肪酸转运至附睾上皮, 再经附睾上皮转运至附睾管腔和精子细胞内的重要载体。

进入精子内的脂肪酸首先活化, 生成脂酰辅

酶A,在线粒体外膜上的肉碱酯酰转移酶 I (carnitine acyl transferase I)催化下与肉碱合成酯酰肉碱(acylcarnitine),后者在线粒体内膜上的肉碱-酯酰肉碱转位酶(carnitine-acylcarnitine translocase)作用下,通过内膜进入线粒体基质内。进入线粒体内的酯酰肉碱在线粒体内膜内侧面的肉碱酯酰转移酶 II 的作用下,转变为酯酰辅酶 A 并释放肉碱。酯酰辅酶 A 则在线粒体基质中的酶体系作用下,进行 β -氧化生成大量乙酰辅酶 A,经三羧酸循环彻底氧化供能;肉碱则在肉碱-酯酰肉碱转位酶作用下转出线粒体内膜,同时将线粒体内的乙酰基或中短链酰基运出线粒体,因此肉碱在将脂肪酸转运至线粒体内的同时,又将乙酰基运出线粒体,生成乙酰肉碱。

睾丸中精子不含肉碱,进入附睾的精子不断从附睾液中获取肉碱,随着精子在附睾中的运行,其细胞内的肉碱含量逐渐增加,获取的肉碱主要集中在精子线粒体,作为脂肪酸和磷脂转运至线粒体内膜的载体,参与精子的能量代谢,为精子运动提供能量^[16]。而且附睾精子有一种酶系 LDH-X,可以利用乙酰左旋肉碱作为精子的另一能量来源^[17]。附睾头部较低浓度的肉碱和乙酰肉碱可以刺激大鼠精子的运动能力,而附睾尾部高浓度的肉碱抑制精子对 O₂ 的摄取,使精子保持在静息状态^[18]。

3.3 肉碱与精浆过多活性氧物质清除

正常情况下机体的活性氧物质(ROS)产生、利用、清除三者处于动态平衡状态,当活性氧物质相对过多,通过脂质过氧化作用使细胞膜受损,如丙二醛等醛基、酮基、羟基、羧基等不仅能通过生物膜中过多不饱和脂肪酸的过氧化引起细胞损伤,还能通过脂质氢化过氧物的分解产物损伤细胞^[19,20]。

当附属性腺发生炎症时,精浆中可产生过多的活性氧物质。大量的病例显示:过多的 ROS 与精子功能缺陷有明显的关联,而自然妊娠率与 ROS 呈明显的负相关^[21]。

左旋肉碱作为一种有效的活性氧物质清除剂,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^[22,23]。Vicari 等联合应用左旋肉碱和乙酰左旋肉碱治疗患前列腺炎精囊炎和附睾炎的男子不育患者,发现增加了前向运动的精子总数,并降低了精浆中 ROS 含量^[20]。

对不育男性进行的抗氧化治疗中,乙酰左旋肉碱可以修复 ROS 对于精子的影响,其主要机制是通过将高浓度的乙酰辅酶 A 转运到细胞外和/或将脂肪酸置换入精子的细胞膜。乙酰左旋肉碱可以使附睾内活性氧物质的产生和清除恢复平衡,进而恢复附睾的分泌功能,减轻生殖道管腔内的压力,从而使得精子的生成增加^[20]。

3.4 肉碱治疗男子不育症的临床研究

精浆中肉碱含量的测定,可反映附睾功能正常与否^[17]。李铮等运用高效液相色谱法进行精浆肉碱浓度与含量的测定,发现少、弱精症患者低于正常捐精者^[19]。补充肉碱治疗男子不育症近年受到广泛关注。经肉碱治疗的男子不育症患者,精浆中左旋肉碱浓度与总量明显高于治疗前,精子质量与数量亦明显改善^[24]。Costa 等通过对弱精症进行的一项多中心临床研究显示,连续服用左旋肉碱(3 g/d),4 个月后,精子活动率、快速前向运动精子率、精子平均运动速度、前向性指数及每次射精中精子总量均有增加($P<0.001$)^[25]。Lenzi 等报道对 100 例男子不育症进行随机双盲对照的左旋肉碱补充疗法(2 g/d),连续治疗 2 个月取得了较好的效果,精子的质量尤其前向运动精子的密度明显增加,有显著统计学差异^[12]。Cavallini 等报道 355 例双盲临床试验证实:联合服用左旋肉碱和乙酰左旋肉碱,明显增加不育患者的精子质量和数量,且受孕率达到 21.8%^[26]。Comhaire 等报道食物中补充左旋肉碱治疗不育症也取得了较好的效果^[27],国内也有类似报道^[24,28]。

综上所述,左旋肉碱是一种类水溶性维生素,使用时不会发生蓄积,无毒无害,较为安全,国内外已在多领域广泛应用。由于附睾中左旋肉碱及乙酰左旋肉碱的高浓度,临床上不仅可将肉碱含量用于诊断不育男性生殖管道是否通畅的指标,肉碱还是非常有潜力的治疗男性少、弱精症的药物^[26]。但是其作用及其转运机制等尚未完全阐明,有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Garolla A, Maiorino M, Roverato A, et al. Oral carnitine supplementation increases sperm motility in asthenozoospermic men with normal sperm phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase levels. *Fertil Steril*, 2005, **83**

- (2): 355-61.
- [2] Rebouche C, Bosch E, Chenard C, *et al.* Utilization of dietary precursors for carnitine biosynthesis in human adults. *J Nutr*, 1989, **19**(12): 1 907.
 - [3] 牛玉坚, 蒋朱明, 舒红, 等. 健康成年人血浆肉毒碱水平和日尿肉毒碱排出量测定. *中国医学科学院学报*, 2002, **24**(2): 185-7.
 - [4] Lenzi A, Sgro 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, **8**(6): 1 579-84.
 - [5] Yeung CH, Anapolski M, Setiawan I, *et al.* Effects of putative epididymal osmolytes on sperm volume regulation of fertile and infertile c-ros transgenic Mice. *J Androl*, 2004, **25**(2): 216-23.
 - [6] Rodriguez CM, Labus JC, Hinton BT. Organic cation/carnitine transporter, OCTN2, is differentially expressed in the adult rat epididymis. *Biol Reprod*, 2002, **67**(1): 314-9.
 - [7] Li P, Chan HC, He B, *et al.* An antimicrobial peptide gene found in the male reproductive system of rats. *Science*, 2001, **291** (5 509): 1 783-5.
 - [8] Pietig G, Mehrens T, Hirsch JR, *et al.* Properties and regulation of organic cation transport in freshly isolated human proximal tubules. *The journal of biological chemistry*, 2001, **276** (36): 33 741-6.
 - [9] Xuan W, Lamhonwah AM, Librach C, *et al.* Characterization of organic cation/carnitine transporter family in human sperm. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, **306**(1): 121-8.
 - [10] 杨瑞峰, 李志艳, 徐国宾, 等. 肉毒碱的生物学特性及其与临床疾病的关系. *中国实验诊断学*, 2005, **9**(2): 310-3.
 - [11] de Rosa M, Boggia B, Amalfi B, *et al.* Correlation between seminal carnitine and functional spermatozoal characteristics in men with semen dysfunction of various origins. *Drugs R D*, 2005, **6**(1): 1-9.
 - [12] Lenzi A, Lombardo F, Sgro P, *et al.* Use of carnitine therapy in selected cases of male factor infertility: a double-blind crossover trial. *Fertil Steril*, 2003, **79**(2): 292-300.
 - [13] Enomoto A, Wempe MF, Tsuchida H, *et al.* Molecular identification of a novel carnitine transporter specific to human testis. Insights into the mechanism of carnitine recognition. *Biol Chem*, 2002, **277**(39): 36 262-71.
 - [14] Yeung CH, Anapolski M, Depenbusch M. Human sperm volume regulation. Response to physiological changes in osmolality, channel blockers and potential sperm osmolytes. *Hum Reprod*, 2003, **18**(5): 1 029-36.
 - [15] 周宗瑶, 王一飞. 附睾精子成熟功能研究进展. *生殖与避孕*, 2003, **23**(4): 238-43.
 - [16] Zhang KX, Yu L, Sun QW. Expression of Cdv-iR gene in mouse epididymis as revealed by *in situ* hybridization. *Arch Androl*, 2005, **51**(1): 7-13.
 - [17] Gurbuz B, Yalti S, Ficicioglu C, *et al.* Relationship between semen quality and seminal plasma total carnitine in infertile men. *J Obstet Gynaecol*, 2003, **23**(6): 653-6.
 - [18] 熊承良, 吴明章, 刘继红, 等. 人类精子学. 武汉: 湖北科学技术出版社, 2002: 466-8.
 - [19] 谷荣华, 李铮, 刘勇, 等. 高效液相色谱法测定不育男子精浆左旋肉碱及其临床意义. *中国男科学杂志*, 2005, **19**(1): 48-9.
 - [20] Vicari E, Calogero AE. Effects of treatment with carnitines in infertile patients with prostatic-vesiculo-epididymitis. *Hum Reprod*, 2001, **16**(11): 2 338-42.
 - [21] Comhaire FH, Mahmoud A. The role of food supplements in the treatment of the infertile man. *Reprod Biomed Online*, 2003, **7**(4): 385-91.
 - [22] Moretti S, Famularo G, Marcellini S, *et al.* L-carnitine reduces lymphocyte apoptosis and oxidant stress in HIV-1-infected subjects treated with zidovudine and didanosine. *Antioxid Redox Signal*, 2002, **4**(3): 391-403.
 - [23] 郭文怡, 杨勇, 贾国良, 等. 左旋卡尼汀对缺氧/复氧诱导的心肌细胞氧化、凋亡影响的体外研究. *中国病理生理杂志*, 2005, **21**(1): 72-6.
 - [24] 李铮, 谷荣华, 刘勇, 等. 补充肉毒碱治疗少弱精子症疗效观察. *上海第二医科大学学报*, 2005, **25**(3): 292-4.
 - [25] Costa M, Canale D, Filicori M, *et al.* L-carnitine in idiopathic asthenozoospermia: a multicenter study. *Andrologia*, 1994, **26**(3): 155-9.
 - [26] Cavallini G, Ferraretti AP, Gianaroli L, *et al.* Cinnocicam and L-carnitine/acetyl-L-carnitine treatment for idiopathic and varicocele-associated oligoasthenospermia. *J Androl*, 2004, **25**(5): 761-70.
 - [27] Comhaire FH, Mahmoud A. The role of food supplements in the treatment of the infertile man. *Reprod Biomed Online*, 2003, **7**(4): 385-91.
 - [28] 商学军, 黄宇烽, 李克, 等. L-肉碱治疗附睾结节伴弱精子症初步观察. *中华男科学杂志*, 2004, **10**(9): 671-2.

(2006年9月30日 收稿)