

肉碱治疗原发性弱精症疗效和安全性的系统评价

薛瑜^{1,2} 张雁钢^{1,3} 王莉⁴ 卢一平^{1*}

1. 四川大学华西医院泌尿外科(成都 610041); 2. 四川大学华西第二医院儿科(成都 610041);
3. 山西医科大学第一临床医学院泌尿外科(太原 030001) 4. 四川大学华西医院中国循证医学中心(成都 610041)

摘要 目的 评价肉碱治疗原发性弱精症的疗效和安全性。**方法** 采用 Cochrane 系统评价方法, 电子检索 1995 年 1 月至 2006 年 12 月期间 MEDLINE、EMbase、Cochrane 图书馆、CNKI 等资料库, 辅以手工检索及追查已纳入文献的参考文献。纳入肉碱治疗原发性弱精症的随机对照试验(RCT)。由 2 名评价者共同评价纳入研究的质量, 对符合标准的研究采用 RevMan 4.2.10 软件进行 Meta 分析。**结果** 共纳入 5 个 RCT, 其中 B 级 2 个, C 级 3 个, 包括 346 例患者, 排除失访人数后实际纳入 307 例进行 Meta 分析。Meta 分析结果显示: ① 肉碱治疗 3~6 个月后, 治疗组与对照组患者配偶的自然妊娠率差异有统计学意义 [RR=2.46, 95%CI (1.12, 5.43), P=0.03]; ② 肉碱治疗 3 个月和 6 个月后治疗组与对照组前向活动精子数差异均无统计学意义 [WMD=9.16, 95%CI (0.14, 18.18), P=0.05; WMD=5.28, 95%CI (-4.45, 15.01), P=0.29]; ③ 肉碱治疗 3 个月和 6 个月后治疗组与对照组前向活动精子率差异均无统计学意义 [WMD=14.56, 95%CI (-4.49, 33.61), P=0.13; WMD=7.34, 95%CI (-5.93, 20.61), P=0.28]; ④ 肉碱治疗 3 个月和 6 个月后治疗组与对照组活动精子数差异均无统计学意义 [WMD=15.32, 95%CI (-1.34, 31.98), P=0.07; WMD=6.20, 95%CI (-3.00, 15.39), P=0.19]; ⑤ 肉碱治疗 3 个月和 6 个月后治疗组与对照组精子总活动率差异均无统计学意义 [WMD=2.97, 95%CI (-5.75, 11.69), P=0.50; WMD=4.48, 95%CI (-9.17, 18.14), P=0.52]; ⑥ 肉碱治疗 3 个月和 6 个月后治疗组和对照组精液量差异均无统计学意义 [WMD=-0.12, 95%CI (-0.55, 0.30), P=0.57; WMD=0.03, 95%CI (-0.38, 0.45), P=0.87]; ⑦ 肉碱治疗 3 个月和 6 个月后治疗组与对照组精子密度差异均无统计学意义 [WMD=7.92, 95%CI (-2.85, 18.68), P=0.15; WMD=1.02, 95%CI (-5.09, 7.14), P=0.74]。有 3 个研究报告治疗期间均无严重不良反应发生。**结论** 现有证据显示, 肉碱治疗可提高原发性弱精症导致不育患者配偶的自然妊娠率, 但不能改善精液分析的各项指标, 无明显不良反应。由于本系统评价纳入文献的数量及质量有限, 目前尚不能肯定肉碱治疗能够改善原发性弱精症导致不育患者的预后。建议进行大样本、设计良好、指标全面的临床随机对照试验, 以提供更佳证据。

关键词 肉碱; 弱精症; 不育; 系统评价

Carnitine in the Treatment of Idiopathic Asthenozoospermia: A Systematic Review

XUE Yu^{1,2}, ZHANG Yan-gang^{1,3}, WANG Li⁴, LU Yi-ping^{1*}

1. Department of Urology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China;
2. Department of Pediatrics, West China Second Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China;
3. Department of Urology, First Clinical Medical College, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China;
4. Chinese Evidence-based Medicine/ Cochrane Centre, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

Abstract Objectives To assess the effectiveness and safety of carnitine in the treatment of idiopathic asthenozoospermia. **Methods** The Cochrane Library, MEDLINE, EMbase, and CNKI were searched between Jan 1995 and Dec 2006. Both English and Chinese studies were included in the review if they were randomized controlled trials (RCTs) involving men with idiopathic asthenozoospermia who were treated with carnitine. Trial screening, data extraction, and quality assessment of included trials were conducted by method recommended by Cochrane Collaboration. Statistical analysis was conducted using RevMan 4.2.10 software. **Results** Five RCTs involving 346 patients met the inclusion criteria, and 307 patients were included in the meta-analysis. The results showed that: after being treated with carnitine for 3 and 6 months, the difference of the patients' partners' spontaneous pregnancy rate between treatment group and control group was statistically significant with RR2.46 and 95% CI 1.12 to 5.43 ($Z=2.23, P=0.03$). After being treated with carnitine for 3 and 6 months, the difference of forward motile sperm per ejaculate between treatment group and control group was not statistically significant with WMD 9.16 and 95%CI 0.14 to 18.18 ($Z=1.99, P=0.05$) and WMD 5.28 and 95%CI -4.45 to 15.01 ($Z=1.06, P=0.29$). After being treated with carnitine for 3 and 6 months, the difference of percentage of forward sperm motility between treatment group and control group was not statistically significant with WMD 14.56

作者简介: 薛瑜, 男(1982年~), 硕士, 以男科学为主要研究方向。Email: billy-wcums@163.com

* 通讯作者: 卢一平, Email: yipinglu@163.com

and 95%CI -4.49 to 33.61 ($Z=1.50, P=0.13$), and WMD 7.34 and 95%CI -5.93 to 20.61 ($Z=1.08, P=0.28$). After being treated with carnitine for 3 and 6 months, the difference of total motile sperm per ejaculate between treatment group and control group was not statistically significant with WMD 15.32 and 95%CI -1.34 to 31.98 ($Z=1.80, P=0.07$) and WMD 6.20, 95%CI -3.00 to 15.39 ($Z=1.32, P=0.19$). After being treated with carnitine for 3 and 6 months, the difference of percentage of total sperm motility between treatment group and control group was not statistically significant with WMD 2.97 and 95%CI -5.75 to 11.69 ($Z=0.67, P=0.50$) and WMD 4.48 and 95%CI -9.17 to 18.14 ($Z=0.64, P=0.52$). After being treated with carnitine for 3 and 6 months, the difference of semen volume between treatment group and control group was not statistically significant with WMD -0.12 and 95%CI -0.55 to 0.30 ($Z=0.57, P=0.57$) and WMD 0.03 and 95%CI -0.38 to 0.45 ($Z=0.16, P=0.87$). After being treated with carnitine for 3 and 6 months, the difference of sperm concentration between treatment group and control group was not statistically significant with WMD 7.92 and 95%CI -2.85 to 18.68 ($Z=1.44, P=0.15$), and WMD 1.02 and 95%CI -5.09 to 7.14 ($Z=0.33, P=0.74$). Three RCTs reported that there were no serious side effects of carnitine during the treatment period. **Conclusions** The available evidence indicates that spontaneous pregnancy rate would increase with carnitine therapy, while it is short of improvement of semen parameters. There is no serious side effect of carnitine. Because of lack of evidence, we cannot conclude that carnitine is effective in improving the prognosis of infertile patients with idiopathic asthenozoospermia. More high quality trials with large sample are proposed.

Key words Carnitine; Asthenozoospermia; Male infertility; Systematic review

不育症是影响男女双方和家庭的全球性问题。在育龄夫妇中不育症的发病率约为 15%，并呈增长趋势。其中，因男性生育能力缺陷所致的不育约占 50%，且有 25% 左右男性不育的病因不明^[1]。关于男性不育的临床研究并未取得明显的进展和突破，可供选择的治疗方法仍然有限。目前应用于临床的大多数治疗仍然仅凭临床经验，缺乏设计良好的临床随机对照试验的支持，致使许多疗法常常得不到明显和长期的疗效^[2]。

肉碱 (carnitine)，又称肉毒碱、维生素 BT、卡尼汀，是一种氨基酸衍生物，近年来其在男性生殖功能中的作用逐渐受到人们的重视，使之成为当今男科学研究领域的热门课题之一。自 2003 年 Lenzi 等^[3]首先发表应用肉碱治疗原发性弱精症的临床对照试验以来，陆续有类似的研究文献发表，但各研究的结论并不一致。本研究采用 Cochrane 系统评价方法，对目前已发表的关于肉碱治疗原发性弱精症的随机对照试验 (RCT) 进行系统评价，以期评估肉碱治疗原发性弱精症的有效性及安全性，为临床医生合理选择不育症的治疗药物及治疗方案提供依据。

1 资料与方法

1.1 纳入与排除标准

1.1.1 研究类型 本研究仅纳入 RCT，无论其是否进行分配隐藏或采用盲法。排除治疗时限少于 3 个月 (不含 3 个月) 的研究。

1.1.2 研究对象 原发性弱精症所致的不育患者，病程大于 1 年，精液检测其精子活动度低于正常 (前

向运动精子低于 50%，或快速前向运动精子低于 25%)，女方生育力检查无异常。其种族、国籍不限。排除极度少、弱精子症及死精子症患者；合并心血管、肝、肾和造血系统疾病者；过敏体质或对肉碱有过敏史者；应用其它药物治疗不育者；未按规定用药、无法判断疗效或资料不全，影响疗效或安全性判断者。

1.1.3 干预措施 治疗组采用口服肉碱和 / 或乙酰肉碱治疗，对照组使用安慰剂或其它药物治疗。

1.1.4 结局指标 主要结局评价指标包括：① 配偶的自然妊娠率；② 精液分析参数 (前向活动精子数、前向活动精子率、活动精子数、精子总活动率、精液量、精子密度共 6 项) 的改善情况。次要评价指标包括：① 精浆中肉碱浓度；② 氧化应激 (oxidative stress) 评价指标；③ 不良反应。

1.2 检索策略

本研究采用计算机机检为主，辅以手工检索以及利用搜索引擎在互联网上查询文献相结合的综合检索方式。英文检索词包括 carnitine、l-carnitine、acetylcarnitine、l-acetylcarnitine、acetylated l-carnitine、l-acetyl-carnitine、vitamin bt、Vit.BT、infertility、infertile、sterile、sterility、asthenozoospermia、asthenospermia、oligoasthenozoospermia、oligoasthenospermia、randomized controlled trial；数据库包括：Ovid MEDLINE、EMbase、CDSR (The Cochrane Database of Systematic Reviews)、ACP Journal Club、DARE (Database of Abstracts of Reviews of Effectiveness)、CCTR (The Cochrane Controlled

Trials Register)、Cochrane 图书馆 2006 年第 3 期。中文检索词: 肉碱、肉毒碱、卡尼汀、卡尼丁、东维力、维生素 BT、不育、不育症、弱精症、弱精子症、少弱精子症、随机对照试验、随机对照研究, 数据库包括 CNKI、VIP、CBMdisc。检索时间均为 1995 年 1 月至 2006 年 12 月。

1.3 原始文献的筛选方法

由两名评价员分别独立筛选研究并进行质量评价, 按预先设计的表格提取资料。如遇意见不一致时, 采用双方讨论协商解决或请教专家。对缺乏的资料尽量与作者联系予以补充。本研究对原始文献的具体筛选方法和步骤如下: ① 初筛, 即逐篇阅读检索出文献的题目和摘要, 剔除明显不符合纳入标准的文献, 合并重复或一稿多投的文献; ② 进一步查找经初筛后拟纳入研究的原文; ③ 逐篇阅读原文, 根据纳入、排除标准确定最后纳入研究的文献。

1.4 文献质量评价

按照 Cochrane 系统评价员手册 4.2.2 版所描述的质量评价标准对所纳入研究的质量进行评价。评判标准包括随机方法、分配隐藏、盲法以及失访四项, 研究质量分为 A、B、C 三级。此外, 本研究还对纳入的 RCT 各组之间的人数、疾病的严重程度等是否基本平衡, 各种基线数据是否相似进行了分析, 以判断研究是否存在选择性偏倚和机遇影响的大小。

对符合纳入、排除标准的研究采用 Cochrane 系统评价软件 RevMan 4.2.10 进行 Meta 分析。疗效效应量同时采用区间估计和假设检验, 对计数资料采用相对危险度 (RR) 作为疗效分析统计量; 对计量资料采用加权均数差 (WMD) 或标准化均数差 (SMD) 作为疗效分析统计量; 各效应量均以 95%CI 表示。假设检验采用 u 检验, 用 Z 值和 P 值表示, 显著性水平设定为 0.05。采用 χ^2 检验分析统计学异质性, 当组内各研究间有统计学同质性 ($P > 0.1$, $I^2 < 50\%$) 时, 采用固定效应模型进行 Meta 分析; 当各研究间存在统计学异质性 ($P \leq 0.1$, $I^2 \geq 50\%$) 时, 首先分析异质性产生的原因, 然后根据可能的异质性因素进行亚组分析, 并采用随机效应模型进行分析。采用漏斗图分析可能的发表偏倚。存在低质量研究时进行敏感性分析。

2 结果

2.1 检索结果

共检索到相关文献 126 篇, 通过阅读文题和摘要, 筛选出 17 篇应用肉碱治疗男性弱精症的文献, 进一步阅读全文, 根据纳入和排除标准, 排除 12 篇

文献; 最终纳入共 5 个 RCT^[4-8] (见附表)。

2.2 纳入研究的特点

5 个 RCT 纳入原发性弱精症患者 26 ~ 150 例, 共 346 例。其中 2 个研究^[4,7] 在意大利进行, 2 个^[5,6] 在中国进行, 1 个^[8] 在美国进行。有 3 个研究^[4,7,8] 以英文发表, 2 个研究^[5,6] 以中文发表。治疗组采用口服肉碱和 / 或乙酰肉碱, 对照组采用安慰剂或维生素 C、维生素 E 治疗。已有研究表明, 维生素 C、维生素 E 对弱精症无治疗作用^[9], 故本系统评价将其视为与安慰剂等同。对纳入文献进行质量评价, 其中 B 级 2 篇, C 级 3 篇 (见附表)。各研究中治疗组和对照组的基线相似性均较好。

2.3 Meta 分析结果

2.3.1 肉碱治疗对患者配偶自然妊娠率的影响 5 个研究^[4-8] 均报告了经过治疗后患者配偶的自然妊娠情况。其中 2 个研究^[5,6] 治疗期为 3 个月, 3 个^[4,7,8] 的治疗期为 6 个月。各研究无统计学异质性 ($\chi^2=3.08$, $P=0.54$), 故采用固定效应模型进行合并分析, 结果显示两组差异有统计学意义 [RR=2.46, 95%CI (1.12, 5.43), $Z=2.23$, $P=0.03$] (见图 1)。

2.3.2 肉碱治疗对精液分析指标的影响

2.3.2.1 前向活动精子数 有 2 个研究^[4,6] 报告治疗 3 个月后前向活动精子数的变化情况。异质性检验发现, 2 个研究间有统计学异质性 ($\chi^2=6.74$, $P=0.009$) (见图 2)。分析异质性的原因显示, Lenzi 等的研究纳入患者的前向活动精子率小于 15%, 不育病程大于 2 年; 而李铮等的研究纳入患者的前向活动精子率介于 10% ~ 50%, 不育病程大于 1 年。2 个研究的治疗组均使用 LC 2 g/d 和 ALC 1 g/d 进行治疗, Lenzi 等的研究疗程为 6 个月, 对照组使用外观和治疗药物完全一样的安慰剂治疗, 李铮等的研究疗程为 3 个月, 对照组使用维生素 E 和维生素 C 治疗。Lenzi 等的研究显示, 治疗组和对照组的前向活动精子数在 3 个月、6 个月时的差异均无统计学意义; 而李铮等的研究显示, 完成 3 个月的治疗后治疗组的前向活动精子数显著增加, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 与对照组差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。应用随机效应模型进行合并分析, 结果显示两组差异无统计学意义 [WMD=9.16, 95%CI (0.14, 18.18), $P=0.05$] (图 2)。值得注意的是, Lenzi 等根据治疗开始前的前向活动精子数值人为将患者分为 3 个亚组 ($< 12 \times 10^6$; $< 8 \times 10^6$; $< 4 \times 10^6$), 亚组分析显示, 治疗前 $< 4 \times 10^6$ 的亚组在治疗 6 个月后两组差异有统计学意义 ($P=0.043$)。

2.3.2.2 前向活动精子率 有 3 个研究^[4,5,7] 报告治

附表 纳入研究的基本情况及其质量评价

纳入研究	例数 (T/C)	方法学质量					干预措施		结果测量指标	疗程 (月)
		随机方法	分配隐藏	盲法	有无失访	等级	治疗组	对照组		
Lenzi A ^[4]	30/30	不清楚	使用	双盲	有	B	LC 2 g/d ALC 1 g/d	安慰剂	①②③④	6
李铮1 ^[5]	40/40	不清楚	未使用	未使用	有	C	LC 2~3 g/d	维生素E 300 mg/d 维生素C 300 mg/d	①②③⑤	3
李铮2 ^[6]	90/60	不清楚	未使用	未使用	有	C	LC 2 g/d ALC 1 g/d	维生素E 300 mg/d 维生素C 300 mg/d	①②③⑤	3
Balercia G ^[7]	15/15	不清楚	使用	双盲	有	B	LC 2 g/d ALC 1 g/d	安慰剂	①②⑥	6
Sigman M ^[8]	13/13	不清楚	未使用	双盲	有	C	LC 2 g/d ALC 1 g/d	安慰剂	①②③⑤	6

LC: 左旋肉碱; ALC: 乙酰左旋肉碱; LPOp: 精子膜脂类过氧化反应测定; TOSC: 精浆总氧自由基清除能力; ①: 配偶的自然妊娠率; ②: 精液分析各项指标; ③: 精浆中肉碱浓度; ④: LPOp; ⑤: 不良反应; ⑥: TOSC

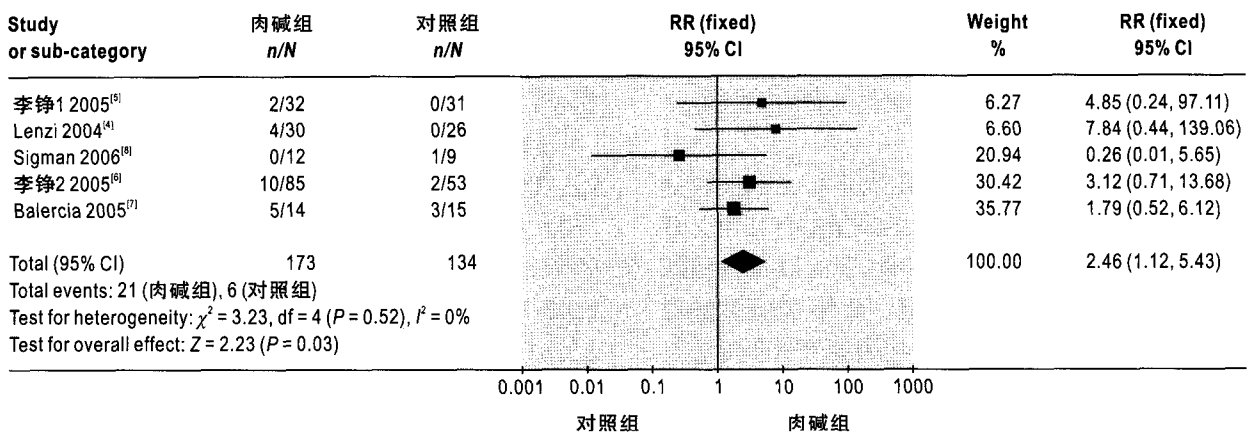


图1 肉碱治疗对患者配偶自然妊娠率影响的Meta分析

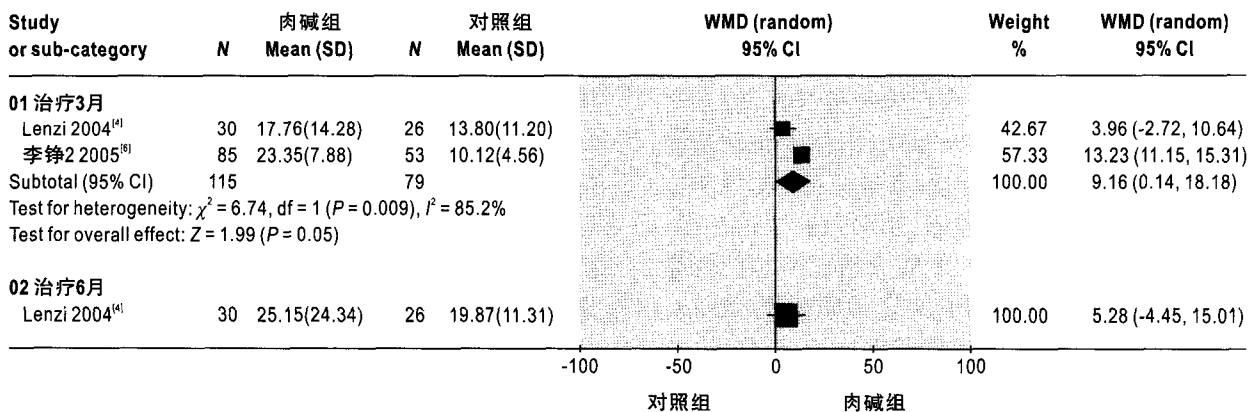


图2 肉碱治疗对前向活动精子数影响的Meta分析

疗3个月后前向活动精子率的变化情况。异质性检验发现, 3个研究间有统计学异质性($\chi^2=100.72$, $P<0.0001$)。应用随机效应模型进行合并分析, 结果显示两组差异无统计学意义[WMD=14.56, 95%CI (-4.49, 33.61), $P=0.13$] (图3)。

分析产生异质性的原因发现, 除Lenzi等纳入患者治疗前的前向活动精子率偏低外, 李铮等的研究失访率较高(21.3%)。Lenzi等发现治疗3个月

后两组前向活动精子率差异无统计学意义。李铮等的研究显示, 治疗后治疗组的前向活动精子率逐渐增加, 较治疗前差异有统计学意义($P<0.01$); 对照组用药前后前向活动精子率虽有增加, 但差异无统计学意义($P>0.05$)。Balercia等则发现, 治疗3个月后两组前向活动精子率差异有统计学意义。

有2个研究^[4,7]报告治疗6个月后前向活动精子率的变化情况。异质性检验发现, 2个研究之间

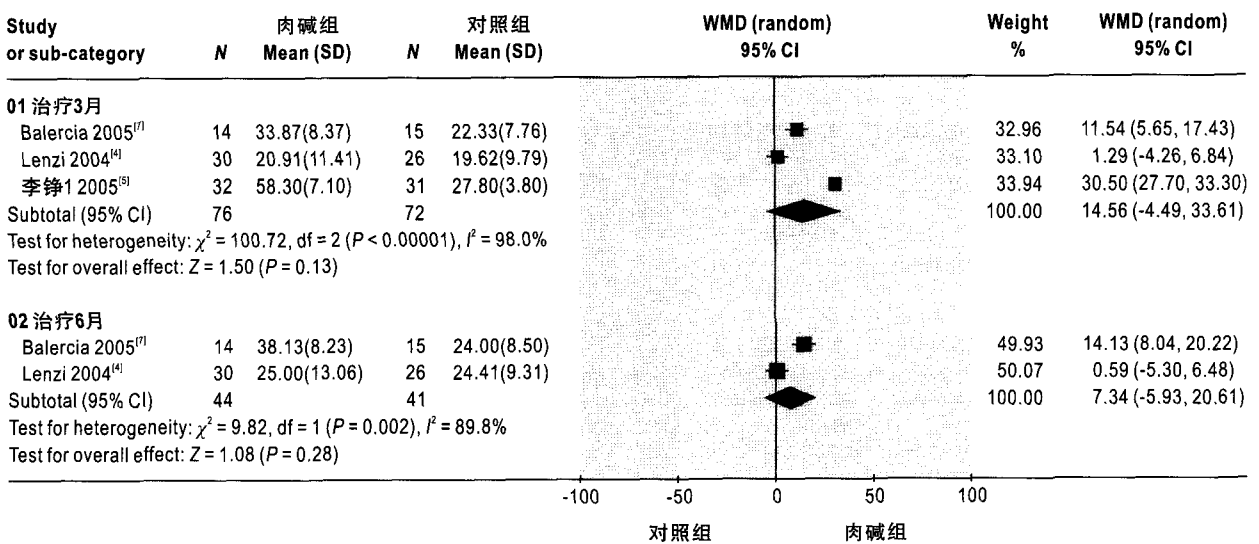


图 3 肉碱治疗对前向活动精子率影响的Meta分析

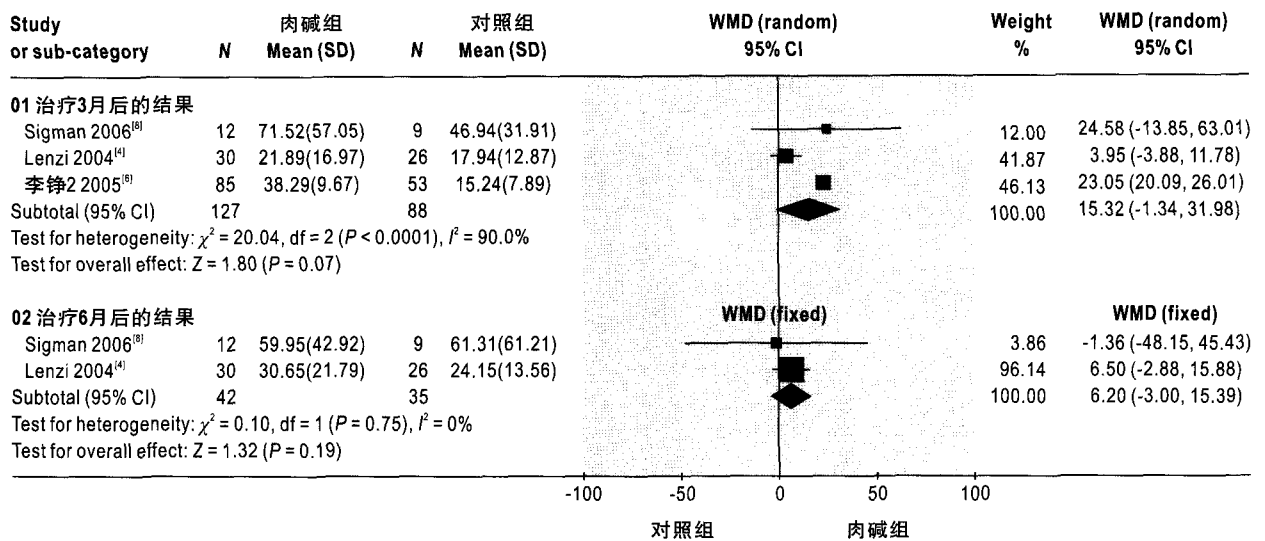


图 4 肉碱治疗对活动精子数影响的Meta分析

有统计学异质性($\chi^2=9.82$, $P=0.002$)。应用随机效应模型进行合并分析,结果发现两组差异无统计学意义 [WMD=7.34, 95%CI (-5.93, 20.61), $P=0.28$] (图 3)。产生异质性的原因在于 Lenzi 等纳入患者治疗前的前向活动精子率偏低(低于 15%), Balercia 等的研究纳入患者治疗前的前向活动精子率低于 50%。Lenzi 等的研究结果显示两组前向活动精子率差异无统计学意义。Balercia 等的研究则显两组差异有统计学意义($P=0.001$)。

2.3.2.3 活动精子数 有 3 个研究^[4,6,8]报告治疗 3 个月后活动精子数的变化。异质性检验发现 3 个研究间存在统计学异质性($\chi^2=20.04$, $P<0.0001$),故用随机效应模型进行合并分析。结果显示两组差异无统计学意义 [WMD=15.32, 95%CI (-1.34, 31.98), $P=0.07$] (图 4)。

分析产生异质性的原因, Lenzi 等和 Sigman 等

研究的对照组均使用与治疗药物外观完全一致的安慰剂,疗程均为 6 个月;而李铮等的研究对照组使用维生素 E 和维生素 C 治疗,疗程为 3 个月。考虑到试验设计可能对结论产生影响,故排除李铮等的研究进行敏感性分析,结果显示两组差异仍无统计学意义 [WMD=4.77, 95%CI (-2.90, 12.45), $P=0.22$]。

有 2 个研究^[4,8]报告治疗 6 个月后活动精子数的变化。异质性检验发现 2 个研究无统计学异质性($\chi^2=0.10$, $P=0.75$),故采用固定效应模型进行合并分析,结果显示两组差异无统计学意义 [WMD=6.20, 95%CI (-3.00, 15.39), $P=0.19$]。Lenzi 等根据治疗开始时活动精子数将患者分为 3 个亚组($<20 \times 10^6$; $<10 \times 10^6$; $<5 \times 10^6$),进行亚组分析后显示,活动精子数 $<5 \times 10^6$ 的亚组治疗 6 个月后治疗组和对照组活动精子数差异有统计学意义($P=0.038$)。

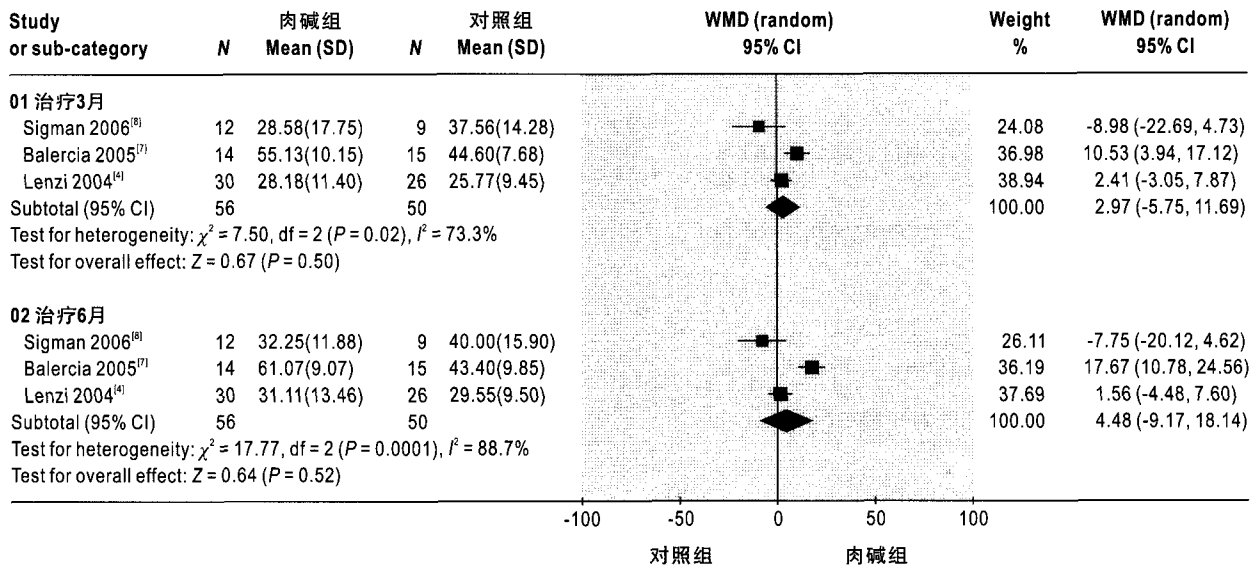


图5 肉碱治疗对精子总活动率影响的Meta分析

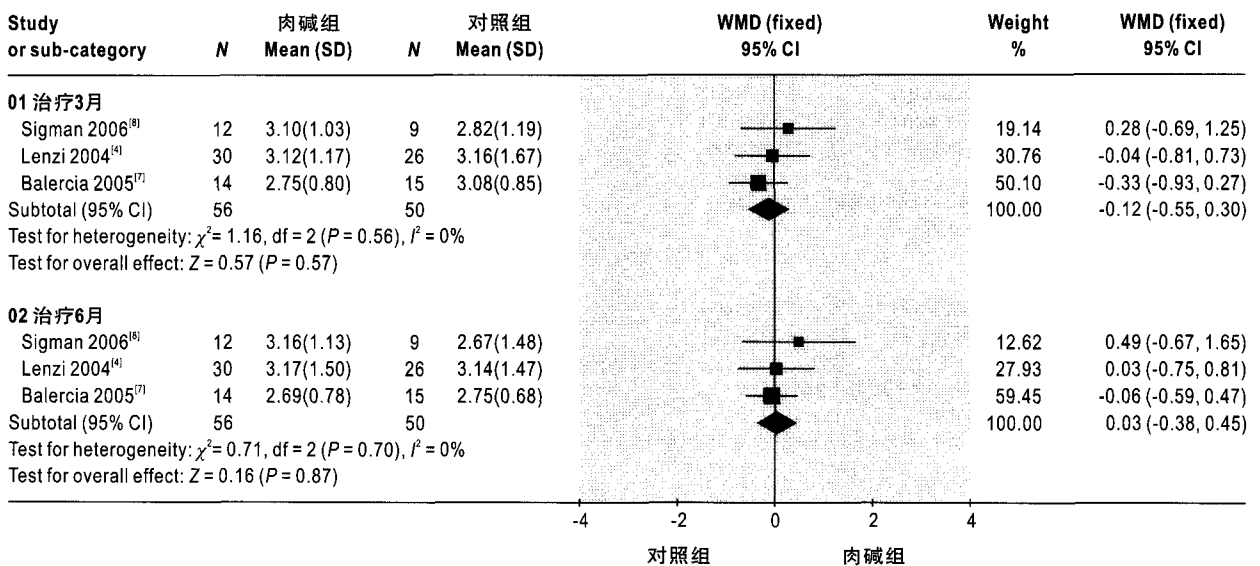


图6 肉碱治疗对精液量影响的Meta分析

2.3.2.4 精子总活动率 有3个研究^[4,7,8]报告治疗3个月和6个月后精子总活动率的变化。异质性检验发现3个研究间有统计学异质性($\chi^2=7.50$, $P=0.02$)。从试验设计、患者一般情况、干预措施和疗程、随访情况等方面综合分析,均未发现可能导致异质性的明显原因。采用随机效应模型合并治疗组和对照组后的结果显示,治疗3个月后治疗组与对照组精子总活动率差异无统计学意义[WMD=2.97, 95%CI (-5.75, 11.69), $P=0.50$];治疗6个月后治疗组与对照组精子总活动率差异亦无统计学意义[WMD=4.48, 95%CI (-9.17, 18.14), $P=0.52$](图5)。

2.3.2.5 精液量 有3个研究^[4,7,8]报告治疗3个月后精液量的变化。异质性检验发现各研究间无统计学异质性($\chi^2=1.16$, $P=0.56$),故采用固定效应模

型进行合并分析。结果显示,治疗3个月后治疗组和对照组精液量差异无统计学意义[WMD=-0.12, 95%CI (-0.55, 0.30), $P=0.57$]。治疗6个月后治疗组和对照组精液量差异也无统计学意义[WMD=0.03, 95%CI (-0.38, 0.45), $P=0.87$](图6)。

2.3.2.6 精子密度 有3个研究^[4,5,7]报告治疗3个月后精子密度变化。异质性检验发现3个研究间存在统计学异质性($\chi^2=16.85$, $P=0.0002$),故用随机效应模型进行合并分析。结果显示两组差异无统计学意义[WMD=7.92, 95%CI (-2.85, 18.68), $P=0.15$](见图7)。

分析异质性产生的原因同2.3.2.2,故排除李铮等的研究后再作敏感性分析。异质性检验发现2个研究无异质性($\chi^2=0.36$, $P=0.55$),故采用固定效应

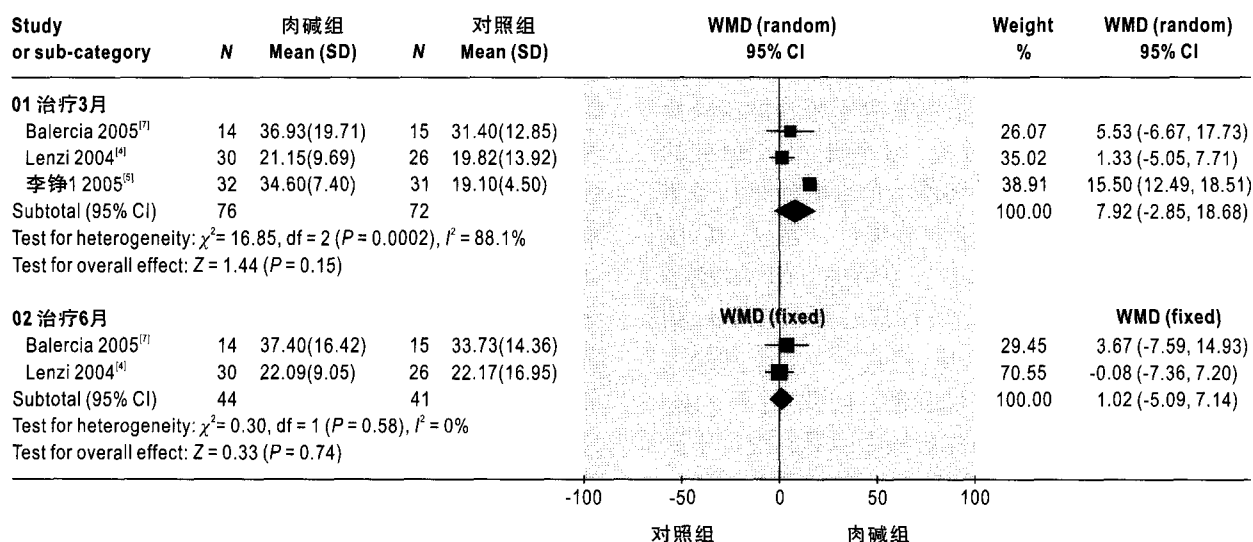


图 7 肉碱治疗对精子密度影响的Meta分析

模型进行合并分析。结果显示,治疗3个月后两组精子密度差异无统计学意义 [WMD=2.23, 95%CI (-3.42, 7.88), $P=0.44$]。有2个研究^[4,7]报告治疗6个月后精子密度变化。异质性检验发现,各研究间无统计学异质性 ($\chi^2=0.30$, $P=0.58$),故采用固定效应模型进行合并分析。结果显示两组差异无统计学意义 [WMD=1.02, 95%CI (-5.09, 7.14), $P=0.74$]。

2.3.3 精浆中肉碱浓度变化 有4个研究^[4-6,8]报告治疗前后精浆中肉碱浓度的变化情况。Lenzi等报告治疗组和对照组治疗前后精浆中肉碱浓度均无显著性差异;李铮等^[5]报告,治疗组用药前后精浆中肉碱浓度变化有统计学意义 ($P<0.01$)。李铮等的后续研究^[6]报告,治疗组治疗前后精浆中肉碱浓度的变化差异有统计学意义 ($P<0.01$)。Sigman等的研究报告,治疗组和对照组治疗前后的精浆中肉碱浓度均无差异。因为Lenzi等的研究未报告治疗前后精浆中肉碱浓度的具体数值,且不同研究报告的肉碱浓度绝对值差异较大,故未对肉碱浓度的变化进行Meta分析。

2.3.4 氧化损伤评价指标 Lenzi等^[4]报告精子膜脂类过氧化反应测定(LPOp)的变化情况。结果显示,治疗组服药前后LPOp的差异无统计学意义。Balercia等^[7]报告精浆的总氧自由基清除能力(TOSC)的变化,治疗组服药前后TOSC的差异有统计学意义,且对羟基自由基和过氧化自由基的清除能力均得到改善,对照组服药前后TOSC的差异无统计学意义。作者进一步对TOSC的增加与精液指标的改善做相关性分析,结果显示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 ($P<0.05$)。

2.3.5 不良反应 有3个研究^[5,6,8]报告肉碱治疗的不良反应。结果显示治疗期间两组均无严重不良反应发生。Sigman等^[8]指出,治疗组与对照组在研究完成后的肝功能(谷丙转氨酶、胆红素)、胆固醇、血清肌酐、尿素氮与研究开始时比较均无显著性差异。

3 讨论

目前认为,肉碱对男性生育功能有如下方面的影响:①促进脂肪酸的氧化供能、启动精子运动、促进精子的成熟和提高精子的受精能力^[10];②调节线粒体内酰基CoA/CoA的比率,防止乙酰CoA对精子的损伤^[11,12];③维持细胞质膜的稳定,保护精子对抗由活性氧(ROS)所诱导的氧化损伤^[13,14];④阻断凋亡的Fas-FasL通路^[15]和线粒体通路^[16,17],减少精子细胞凋亡;⑤调节Sertoli细胞的功能,增加其提供给配子的营养供应,提高精子发生效率^[18,19];⑥促进精子成熟,提高精子的生存能力,改善精子质量^[20-22]。

3.1 肉碱治疗对患者配偶自然妊娠率的影响

纳入本研究分析的5个研究均报告了研究过程中患者配偶的自然妊娠情况,其中2个研究^[4,7]详细报告了妊娠发生时间。Lenzi等^[4]报告治疗组的患者配偶有4例自然妊娠,其中2例发生在服药后4个月,服药后5个月、6个月各1例;而对照组患者的配偶无自然妊娠发生。在Balercia等^[7]报告治疗组患者的配偶有5例自然妊娠,其中3例发生在服药后3个月,2例在服药后5个月;对照组患者的配偶亦有3例自然妊娠,分别发生在服药后1个月、3个月和服药完成后随访期的第2个月。人类睾丸的生精周期为70~78天,到达附睾的精子完成其

成熟过程需要 14 天左右。上述两个研究中治疗组患者的配偶发生自然妊娠的时间符合男性生殖过程的时间规律,同时也说明肉碱治疗原发性弱精症导致的不育疗程至少应为 3 ~ 6 个月。5 个研究的 Meta 分析结果显示,应用肉碱治疗后治疗组和对照组患者配偶自然妊娠率差异有统计学意义,其 RR (95%CI) 为 2.46 (1.12, 5.43), $P=0.03$ 。但 RR 值的 95% 可信区间的下限为 1.12,很接近其无效限 1;结合精液分析的各项指标来看,经过 3 ~ 6 个月的肉碱治疗后,各项指标无明显改善。因此,虽然 Meta 分析提示两组患者配偶自然妊娠率差异有统计学意义,但对此结论的解释应慎重,尚不能确定此差异的临床意义。

3.2 肉碱治疗对精液分析各项指标的影响

精液分析是评估男性生育能力的重要方法,也是不育症诊断和疗效观察的实验依据。精液分析的指标种类较多,本文就精液常规检查的 6 项主要指标(前向活动精子数、前向活动精子率、活动精子数、精子总活动率、精液量、精子密度)进行了系统评价。研究结果显示,经过 3 ~ 6 个月的肉碱治疗,精液分析的各项指标均无明显改善。值得注意的是,上述指标并未包括精子功能方面的检测指标(如精子-仓鼠卵穿透试验、毛细血管穿透试验等)。若要验证肉碱治疗能否改善弱精症患者精子的受精能力,需要在以后的试验中加入精子功能方面的检测指标。

3.3 肉碱治疗后精浆中肉碱浓度的变化

在纳入的 5 项研究中有 2 项研究^[5,6]报告,治疗组服药前后精浆中肉碱浓度的差异具有统计学意义;另外有 2 项研究^[4,8]报告,服药前后精浆中肉碱浓度的差异无统计学意义。结合上述妊娠率和精液分析的指标来看,存在以下两种可能性:① 精浆中的肉碱浓度原本处在一个较高的水平,通过口服肉碱治疗后可以提高其浓度,此提高的部分可以改善精子功能,但因为其初始值较高,使得治疗前后的浓度差异未能达到统计学上的显著性;② 精液指标之所以没有改善,是因为治疗前后精浆内的肉碱水平差距不明显,肉碱浓度并没有得到明显的提高。因此,需要进一步的试验来澄清此问题。

3.4 肉碱治疗对氧化应激评价指标的影响

自由基生物学理论认为,需氧生物体内具有产生与清除活性氧(reactive oxygen species, ROS)的双重能力,正常情况下二者处于动态平衡状态。当活性氧的产生超过机体的清除能力或机体的抗氧化防御能力减弱时,可造成机体氧化损伤,即所谓的氧化应激或氧化胁迫(oxidative stress)。随之而产生

的是对细胞的一系列损伤,如脂质膜的过氧化、酶蛋白的失活、DNA 链的断裂等^[23]。对氧化应激的评价,传统方法是通过测定机体某种特定抗氧化成分和/或自由基代谢产物的变化,包括脂类过氧化物、丙二醛、超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶、超氧阴离子自由基、羟基自由基、一氧化氮等^[24]。上述标志物可以在一定程度上反映机体氧化损伤的发生及其抗氧化能力的变化,但由于机体氧化损伤过程的复杂性,单个或多个指标的变化尚不足以说明氧化损伤是否已经发生及其程度^[25,26]。Lenzi 等的研究^[4]显示,精子膜脂类过氧化反应测定(LPOp)能够较为特异地反映精子中自由基代谢产物的变化,而肉碱治疗组服药前后的差异并无统计学意义。Balercia 等^[7]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,这一指标能更全面地反映氧化与抗氧化损伤的实际水平。该研究结果显示,肉碱治疗组服药前后的差异有统计学意义,且 TOSC 的增加与反映精子运动能力的指标(精子总活动率、前向活动精子率)的改善呈正相关。

3.5 本系统评价的局限性

从本研究的方法学可以看出,本系统评价搜集文献广泛、全面,纳入的所有研究均为随机对照试验,但数量较少,且部分研究质量欠佳,多数评价指标涉及的研究数量较少,使其论证强度受到影响。同时,由于纳入研究在试验设计、研究对象选取、试验措施、治疗周期、随访情况等方面的差异,使各研究之间存在较大的异质性,影响了对其结果的合并分析及解释。此外,纳入研究选取的精液分析指标尚不够全面,均未对治疗前后精子的功能进行检测,虽然治疗组和对照组患者配偶自然妊娠率的差异有统计学意义,但精液分析的指标并无明显改善,加之影响妊娠的因素非常复杂,因此限于现有文献的研究结果,尚不能肯定肉碱治疗能改善因原发性弱精症导致不育病人的预后。今后的研究方向包括:① 增大研究样本量;② 改善试验设计,提高试验质量;③ 尝试增大肉碱的剂量:现有试验的肉碱剂量均参照肉碱治疗心、肾、神经系统等疾病的常用剂量,增大肉碱的剂量有可能使治疗后精浆中肉碱浓度得到明显提高,进而可能改善精液分析的指标;④ 精液分析的指标中加入精子功能的检测指标,以进一步深入探讨肉碱治疗对精子质量的影响。

综上所述,肉碱可以提高原发性弱精症导致不育患者配偶的自然妊娠率,不能改善精液分析的各项指标,无明显不良反应。限于现有文献的数量及质量,目前尚不能肯定肉碱治疗能改善原发性弱精

症导致不育病人的预后。肉碱对原发性弱精症发挥治疗作用的机制可能与其为精子提供能量,改善精子的受精能力有关,尚需进一步深入研究。限于目前已发表原始文献质量、数目的原因,本系统评价中的部分证据可能存在偏倚,在应用时应谨慎。今后的研究应扩大样本含量、完善试验设计,尝试增加肉碱的治疗剂量,完善精液的评价指标,以提高研究的质量和论证强度。

参 考 文 献

- Siddiq FM, Sigman M. A new look at the medical management of infertility. *Urol Clin North Am*, 2002, 29(4): 949-963.
- 郭应禄,李宏军. 男性不育症. 见: 郭应禄,李宏军,主编. 男性不育症. 第1版. 北京: 人民军医出版社, 2003. 36-39.
- 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.
- Lenzi A, Sgro P, Salacone P, et al. A placebo-controlled double-blind randomized trial of the use of combined l-carnitine and l-acetylcarnitine treatment in men with asthenozoospermia. *Fertil Steril*, 2004, 81(6): 1578-1584.
- 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: 292-294.
- 李铮,陈国武,商学军,等. 左旋肉碱和乙酰左旋肉碱合用治疗少弱精子症有效性与安全性的多中心随机对照临床研究. 中华男科学杂志, 2005, 11: 761-764.
- 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.
- Sigman M, Glass S, Campagnone J, et al. Carnitine for the treatment of idiopathic asthenospermia: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Fertil Steril*, 2006, 85(5): 1409-1414.
- Rolf C, Cooper TG, Yeung CH, et al. Antioxidant treatment of patients with asthenozoospermia or moderate oligoasthenozoospermia with high-dose vitamin C and vitamin E: a randomized, placebo-controlled, double-blind study. *Hum Reprod*, 1999, 14(4): 1028-1033.
- Jeulin C, Lewin LM. Role of free L-carnitine and acetyl-L-carnitine in post-gonadal maturation of mammalian spermatozoa. *Hum Reprod Update*, 1996, 2(2): 87-102.
- Arduini A. Carnitine and its acyl esters as secondary antioxidants? *Am Heart J*, 1992, 123(6): 1726-1727.
- Vicari E, Calogero AE. Effects of treatment with carnitines in infertile patients with prostatic-vesiculo-epididymitis. *Hum Reprod*, 2001, 16(11): 2338-2342.
- Schinetti ML, Rossini D, Greco R, et al. Protective action of acetylcarnitine on NADPH-induced lipid peroxidation of cardiac microsomes. *Drugs Exp Clin Res*, 1987, 13(8): 509-515.
- Ochsendorf FR. Infections in the male genital tract and reactive oxygen species. *Hum Reprod Update*, 1999, 5(5): 399-420.
- Mutomba MC, Yuan H, Konyavko M, et al. Regulation of the activity of caspases by L-carnitine and palmitoylcarnitine. *FEBS Lett*, 2000, 478(1-2): 19-25.
- Jarvis WD, Kolesnick RN, Fornari FA, et al. Induction of apoptotic DNA damage and cell death by activation of the sphingomyelin pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1994, 91(1): 73-77.
- Vescovo G, Ravara B, Gobbo V, et al. L-Carnitine: a potential treatment for blocking apoptosis and preventing skeletal muscle myopathy in heart failure. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2002, 283(3): C802-810.
- Palmero S, Bottazzi C, Costa M, et al. Metabolic effects of L-carnitine on prepubertal rat Sertoli cells. *Horm Metab Res*, 2000, 32(3): 87-90.
- Caviglia D, Scarabelli L, Palermo S. Effects of carnitines on rat sertoli cell protein metabolism. *Horm Metab Res*, 2004, 36(4): 221-225.
- Mataliotakis I, Koumantaki Y, Evageliou A, et al. L-carnitine levels in the seminal plasma of fertile and infertile men: correlation with sperm quality. *Int J Fertil Womens Med*, 2000, 45(3): 236-240.
- Gurbuz B, Yalti S, Ficiolu C, et al. Relationship between semen quality and seminal plasma total carnitine in infertile men. *J Obstet Gynaecol*, 2003, 23(6): 653-656.
- Salinas Sanchez AS, Moreno Aviles J, Lopez Paredes A, et al. Evaluation of seminal carnitine as a marker of epididymal function. *Actas Urol Esp*, 1989, 13(3): 181-184.
- Cohen GM, d'Arcy Doherty M. Free radical mediated cell toxicity by redox cycling chemicals. *Br J Cancer Suppl*, 1987, 8: 46-52.
- Halliwell B. Biochemical mechanisms accounting for the toxic action of oxygen on living organisms: the key role of superoxide dismutase. *Cell Biol Int Rep*, 1978, 2(2): 113-128.
- Winston GW, Regoli F, Dugas AJ, et al. A rapid gas chromatographic assay for determining oxyradical scavenging capacity of antioxidants and biological fluids. *Free Radic Biol Med*, 1998, 24(3): 480-493.
- Balercia G, Armeni T, Mantero F, et al. Total oxyradical scavenging capacity toward different reactive oxygen species in seminal plasma and sperm cells. *Clin Chem Lab Med*, 2003, 41(1): 13-19.

收稿日期: 2008-12-02 修回日期: 2009-3-3

本文编辑: 刘雪梅