



This article appeared in a journal published by Elsevier. The attached copy is furnished to the author for internal non-commercial research and education use, including for instruction at the authors institution and sharing with colleagues.

Other uses, including reproduction and distribution, or selling or licensing copies, or posting to personal, institutional or third party websites are prohibited.

In most cases authors are permitted to post their version of the article (e.g. in Word or Tex form) to their personal website or institutional repository. Authors requiring further information regarding Elsevier's archiving and manuscript policies are encouraged to visit:

<http://www.elsevier.com/copyright>

PRATIQUES ET TENDANCES

Stress oxydant et fertilité : fausses évidences et mauvaises recettes**Oxidative stress and fertility: False evidence and bad recipes**Y. Ménézou^{a,*}, F. Entezami^a, I. Lichtblau^b, M. Cohen^{c,l}, S. Belloc^b, M. Brack^{d,l}^a UNILABS, laboratoire Dynabio/Unilabs, clinique du Cotentin, 50120 Equeurdreville, France^b Laboratoire d'Eylau, 55, rue St-Didier, Paris, France^c PROCRELYS, 28, avenue Rockefeller, 69008 Lyon, France^d GIE retraite et santé, boulevard St-Germain, 75007 Paris, France

Reçu le 28 avril 2012 ; accepté le 9 juillet 2012

Disponible sur Internet le 21 novembre 2012

Résumé

Les conditions de la vie moderne ont tendance à baisser la fertilité. Les organismes sont soumis à des perturbateurs endocriniens, les pesticides et les xenoestrogènes. Ces reprotoxiques interviennent via ce que l'on appelle le stress oxydant. Le stress oxydant est une pathologie qui intervient dans environ la moitié des cas chez les hommes infertiles. Ce stress a pour cibles, entre autres, l'ADN des gamètes. Or l'un des facteurs les plus préoccupants, pour les techniques d'Assistance médicale à la procréation (et spécialement l'ICSI), est la qualité de l'ADN du sperme. Dans un système où la sélection naturelle est by-passée le risque de transmission de maladies génétiques ou de cancer n'est pas nul. L'ADN peut également se dégrader sous l'action du stress oxydant. Si l'ovocyte possède des systèmes de réparation de l'ADN assez redondants, ceux-ci malheureusement diminuent fortement avec l'âge maternel, à une époque où les mères enfantent de plus en plus tard. Aussi, afin d'atténuer les effets du stress oxydant, il est tentant de proposer des suppléments minéraux et vitaminiques. Si ce principe est théoriquement bon, l'évolution moderne de la connaissance du stress oxydant, quelle que soit la pathologie, met à mal la pertinence de certains traitements qui seront discutés ici.

© 2012 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Abstract

Worldwide statistics agree that at least one out of six couples has fertility problems. If the male gamete is the origin of this problem, it is generally admitted that the oxidative stress is involved. Modern life has obviously increased fertility problems through pesticides, xenoestrogens, endocrine disrupting chemicals involved in plastic technology such as polychlorinated bisphenyls, bisphenol A, phthalates and alkylphenols. . . and other cosmetic additives. An important part of these compounds increases oxidative stress, at least in part. Oxidative stress is more than probably at the origin or recurrent increasing pathologies such as endometriosis. If the oocyte is theoretically able to repair oxidative stress linked decays such as DNA fragmentation and oxidation of bases, its capacity is finite and decreasing with age. In order to decrease DNA repair charge, reducing or even avoiding the generation of DNA damages related to reactive oxygen species through consumption of antioxidants compounds is often tempting: however Reasons will be provided to break

* Auteur correspondant.

E-mail address: yves.menezo@club-internet.fr (Y. Ménézou).^l YM, MC et MB sont membres de The oxidative stress College (Paris).

from current treatments given haphazardly in the population in the age of reproduction, as well as the potential risks of over-exposure. Furthermore recommended treatments, in relation with the new concepts in oxidative stress, will be specified.

© 2012 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Mots clés : Stress oxydant ; Sperme ; Vitamines ; Homocystéine ; Supplémentation ; Zinc ; Sélénium

Keywords: Oxidative stress; Sperm; Vitamins; Homocysteine; Supplementation; Zinc; Selenium

1. INTRODUCTION

Il est maintenant assez largement admis que les conditions de la « vie moderne » ont sérieusement altéré la fertilité humaine. Les cellules de la lignée germinale sont de plus en plus soumises à des agressions environnementales pouvant altérer la qualité des gamètes en général et des spermatozoïdes en particulier. Il faut mentionner ici les disrupteurs endocriniens (dont polymérisants des plastics retrouvés dans les jouets du premier âge, cosmétiques, xœstrogènes, pesticides. . .). Les métaux lourds interfèrent négativement avec les mécanismes de réparation de l'ADN (Cadmium). Les reprotoxiques comme les glycols et leurs éthers sont parfois présents dans les adjuvants des cosmétiques et d'une façon générale dans l'environnement quotidien et ceci dès le premier âge (détergents). Le résultat est une baisse de la qualité du sperme liée plutôt à une augmentation des formes anormales qu'à une diminution du nombre qui fait parfois encore l'objet de polémiques. Chez la femme, c'est l'augmentation de pathologies comme l'endométriose qui, entre autres, peut interpeler. Bon nombre de ces facteurs reprotoxiques passent par une augmentation du stress oxydant qui est une agression des constituants de la cellule par des radicaux libres oxygénés (RLO : OH^\bullet , H_2O_2 , O_2^- , résultant du métabolisme de l'oxygène). Ce stress oxydant ne pourra être combattu que partiellement dans l'environnement du jeune embryon in vivo [1]. Ceci a entraîné la mise sur le marché de cocktails vitaminiques dont nous analyserons la pertinence dans ce texte.

2. ÉTAT DES LIEUX

Un des facteurs les plus préoccupants, pour les techniques d'Assistance médicale à la procréation (AMP) (et spécialement l'ICSI), est la qualité de l'ADN du sperme : il s'agit surtout de la fragmentation (structure primaire et secondaire) et la décondensation (structure tertiaire). Le stress oxydant est l'un des effecteurs majeurs des dégâts de l'ADN et d'une façon plus générale, de la qualité du sperme [2]. Bien que l'ICSI ait montré une efficacité certaine, une parfaite innocuité est encore loin d'être démontrée. Dans un système où la sélection naturelle est by-passée, le risque de transmission de maladies génétiques ou de cancer n'est pas nul [3–5]. Les RLO affectent la qualité de l'ADN, non seulement en induisant, une oxydation des bases de l'ADN, une fragmentation (Fig. 1 et 2) mais aussi en favorisant la formation d'adduits, qui déforment la structure des bases, notamment guanine et adénine [6]. Les adduits sont des molécules normalement absentes, produits de la réaction

chimique entre une molécule parasite (goudrons chez les fumeurs, dérivés d'oxydation des graisses, molécules chimiques comme le chlorure de vinyle. . .) et les bases de l'ADN. Ces dégâts affectent l'ADN nucléaire et mitochondrial. Les composés produits de l'oxydation des bases de l'ADN, la fragmentation de l'ADN et les adduits bloquent la transcription (formation des ARN messagers). Cela signifie que s'ils se trouvent sur une partie codante importante, un facteur de croissance par exemple, ce composé ne sera tout simplement plus synthétisé, avec les conséquences que cela peut impliquer.

De fait, ces dégâts sont théoriquement réparés dans le zygote, et le tout jeune embryon, à partir des réserves accumulées dans l'ovocyte au cours de la maturation : il est admis que lors du premier cycle cellulaire, 1,5 à deux millions d'opérations de réparation sont réalisées [7]. Ceci n'est pas spécialement original dans la mesure où toutes les cellules de l'organisme sont soumises de façon permanente aux dégâts de l'ADN et à leur réparation ; mais il est simplement évident que ce processus est d'importance majeure au tout début de l'embryogenèse. Il est important de savoir que la capacité de réparation de l'ADN, par l'ovocyte est assez conséquente mais pas extensible et qu'elle diminue avec l'âge [7–10]. De plus, avec l'âge, les dégâts de l'ADN de l'ovocyte, dont on sait assez peu de choses, sauf chez les fumeuses [3,11] augmentent également [12], contribuant ainsi à augmenter la charge globale de l'ADN à réparer.

Quand la capacité de réparation est « débordée », deux options majeures sont alors possibles :

- l'apoptose, ou suicide cellulaire ou mort cellulaire programmée, qui induira l'arrêt du développement embryonnaire ;

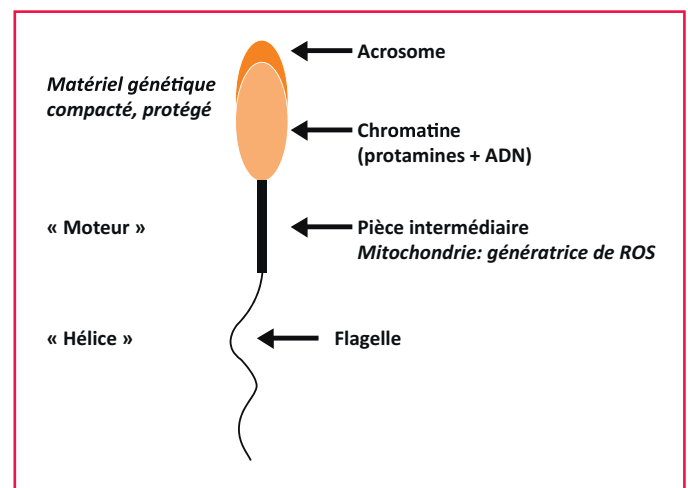


Fig. 1. Structures du spermatozoïde.

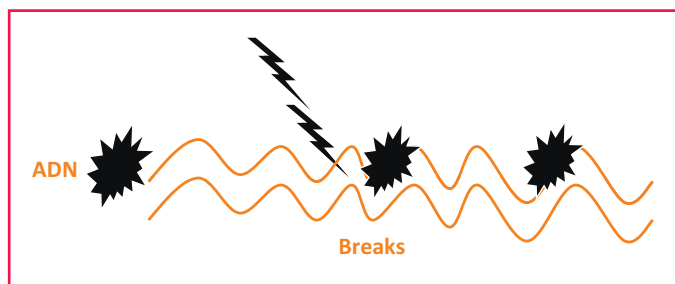


Fig. 2. Fragmentation de l'ADN (dommage sur les brins de l'ADN).

- la tolérance, qui « laissera passer » sans réparer et induira une mutation source de problèmes génétiques et/ou de cancers, à plus ou moins long terme [13] (Fig. 3).

Aussi est-il tentant de réduire, voire d'éviter la génération dégâts de l'ADN liés aux RLO via l'ingestion d'antioxydants (spécialement les vitamines, dont C, A et E, associées au sélénium [Se], le coenzyme Q10 [coQ10], la superoxyde dismutase [SOD], etc.). Cependant, si ces mélanges sont parfois efficaces à la marge, pour réduire la fragmentation de l'ADN du sperme, ils induisent dans un grand nombre de cas la décondensation du noyau [14]. De fait le noyau du spermatozoïde est normalement très compacté, avec une structure tertiaire très particulière : cette structure est spécifique du gamète male et est en grande partie liée à la présence des protamines, au lieu des histones, comme protéines associées au noyau. Une mauvaise régulation de cette compaction affecte très négativement, au moment de la fécondation, les régulations du génome paternel au début du développement embryonnaire [15]. Les jeunes embryons se bloquent alors dès le stade une cellule aboutissant à des syndromes de « non fécondations » indument nommés.

Nous donnerons ici les raisons pour lesquelles il faut absolument sortir des traitements actuels donnés au hasard

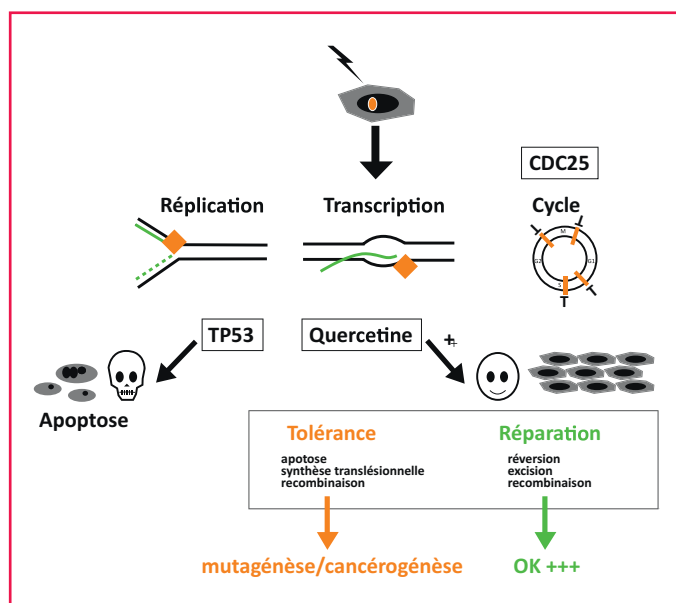


Fig. 3. Apoptose/arrêt du cycle cellulaire – réparation/tolérance.

et ignorant l'absence de carences dans la population générale et les risques auxquels conduit une surexposition. Par ailleurs, nous expliquerons les anomalies liées à l'utilisation d'antioxydants trop forts. Une étude des dégâts réels de sperme avant tout traitement, à savoir fragmentation de l'ADN, condensation et structure tertiaire du noyau, est absolument nécessaire afin de définir les traitements efficaces. Nous indiquerons les options modernes, basés sur les constatations scientifiques, que nous pensons bien mieux adaptés.

3. ÉVALUATION DES PARAMÈTRES DU SPERME

Un paramètre important se doit d'être mentionné : le type, la spécificité (fragmentation, décondensation) et la reproductibilité des contrôles du sperme sont importants [16], la qualité de l'analyse est bien sûr d'importance majeure pour que le traitement soit efficace. Si la numération et la mobilité du sperme sont, de façon évidente, importants pour la conception naturelle, ceci est bien moins évident pour les techniques de procréation médicalement assistée. Il faut cependant indiquer ici que les paramètres du spermogramme classiques ne sont en rien informatifs quant à la qualité de l'ADN du sperme correspondant. Dans tous les cas, la qualité de l'ADN, son absence de fragmentation et de produits d'oxydation et la qualité de la structure tertiaire (condensation) sont des paramètres majeurs pour un développement embryonnaire harmonieux à terme. Depuis les travaux d'Evenson et al. [17] sur la structure de la chromatine du sperme (*sperm chromatine structure assay* [SCSA]), plusieurs techniques ont été proposées. Si le SCSA est considéré comme le Golden standard, du fait notamment de sa reproductibilité, le Tunel est sans doute la technique la plus populaire pour évaluer la fragmentation de l'ADN : c'est une technique également reproductible et fiable. Pour la condensation de l'ADN, les techniques au bleu d'aniline/toluidine sont préférées à la chromomycine qui manque de spécificité [18]. Les dégâts de l'ADN sont nombreux, et plusieurs dizaines d'altération des bases ont été décrites [7,8]. La lésion la plus représentative est la formation de 8-oxo-deoxyguanosine [8 OH dG], produit de l'oxydation de l'ADN au niveau de la guanine. La guanine est la base de l'ADN la plus sensible à l'oxydation et cette observation n'est pas bénigne car les télomères, régions hautement répétitives (TTAGGG) et protectrices à l'extrémité des chromosomes sont riches en guanine ; le dosage de la 8 OHdG est délicat [6]. La malonaldehyde est un produit d'oxydation des graisses, qui peut être dosée dans le plasma séminal, elle est symptomatique d'un stress oxydant. Pour autant, elle est plus liée à l'immaturation et la décondensation du noyau [19]. En effet, les acides gras polyinsaturés (PUFA) très fortement représentés dans les formes immatures du spermatozoïde sont très sensibles à l'auto-oxydation et à la formation de malonaldehyde [20]. Une chute sévère de motilité des spermatozoïdes peut être également le signe de stress oxydant [2].

4. TRAITEMENTS ACTUELS ET LEURS EFFETS DÉLÉTÈRES

Les traitements actuels sont composés essentiellement de Se, et de cocktail de vitamines (A, E, et C), parfois le coQ10 et la SOD.

4.1. Le sélénium

Le Se est généralement donné pour lutter contre le vieillissement. Il y a 25 sélénoprotéines chez l'homme, parmi lesquelles les plus connues sont les glutathions peroxydases (GPX). En fertilité masculine, la seule raison pour laquelle il est donné *largu manu* en supplément, réside dans son rôle comme cofacteur de la phospholipide hydroperoxyde GPX (GPX 4, PHGPx [21]) responsable de la compaction du noyau du spermatozoïde et donc, en l'occurrence, de la structure tertiaire du noyau. Plusieurs observations sont en défaveur d'une supplémentation en Se : la concentration optimum se situe entre 50 et 70 microgrammes/mL. En deçà et au-delà de ces valeurs, la qualité du sperme est altérée [22]. La supplémentation en Se augmente la valeur sérique ne modifie pas la valeur testiculaire : comme chez l'animal, le statut en Se du testicule est indépendant de toute supplémentation [23,24]. À ce niveau, la supplémentation raisonnable ne peut pas atteindre l'organe cible souhaité. Par ailleurs, d'autres éléments péjoratifs se surajoutent. Les sélénites sont inducteurs d'apoptose en générant des superoxydes (RLO) via les mitochondries », alors que la mitochondrie est déjà la principale source de dégâts de l'ADN du spermatozoïde, du fait de son métabolisme (Ox phos) fournisseur d'énergie pour le spermatozoïde [20,25]. De plus, une interaction peut se produire entre les structures « Zinc (Zn) finger » de réparation de l'ADN, des dérivés du Se et d'autres éléments, présents à l'état de trace, mais indispensables. Ces interactions ont des effets anticarcinogéniques quand ces éléments sont présents à faible concentration mais ils compromettent la stabilité génétique à trop fortes concentrations en affectant la méthylation de l'ADN [26–28]. Dans une étude impliquant 100 patients, Li et al. [29] ont montré que les concentrations en cuivre (Cu), le manganèse (Mn) et le Se sont significativement plus élevées dans le plasma séminal des spermés anormaux ($P[\text{Cu}] = 0,024$, $P[\text{Mn}] = 0,002$, $P[\text{Se}] = 0,002$), que dans les spermés normaux. « Ceci réduit aussi fortement toute tentation d'une éventuelle supplémentation en Mn ». Il faut rappeler ici que le Cu et le fer (Fe) sont, dans l'organisme, des inducteurs sévères du stress oxydant via les réactions de Haber-Weiss et Fenton. Toute supplémentation non contrôlée, sans vérification des carences éventuelles, pose réellement question (spécialement pour le Fe et le Cu !!!).

Pour Hawkes et Turek [30], le Se à forte dose réduit fortement la mobilité spermatique via une altération de la fonction thyroïdienne : nous avons pu confirmer cette observation, chez au moins deux patients pour lesquels des anomalies de la fonction thyroïdienne ont été associées à de fortes prises de Se. Enfin, la valeur du Se sérique n'est « jamais » un marqueur du stress oxydant, sauf pour les maladies de type

rhumatoïde [31]. Enfin, il n'est pas inutile d'ajouter ici qu'une forte concentration en Se est l'un des six paramètres (avec l'aluminium, la contamination bactérienne, la radioactivité, les pesticides et les nitrates) qui déclassent l'eau d'une nappe phréatique ou une source en « non potable ».

4.2. Le coenzyme Q10 (coQ10)

Il est important de signaler tout d'abord qu'il n'y a pas de carences en coQ10 sauf principalement en cas de mutations récessives autosomales, de cancer avéré ou de traitements aux statines (qui sont connues pour induire la fragmentation de l'ADN du sperme). Mais des déficiences en coQ10 peuvent également être observées dans le cas de désordres neurovégétatifs comme le diabète, les pathologies musculaires et cardiovasculaires [32]. Il ne s'agit donc généralement pas de la population jeune, en état de procréer.

Le deuxième point important est que les préparations commerciales de coQ10 (ubiquinone) présentent une très faible capacité à être absorbée par l'intestin, essentiellement du fait d'une très faible solubilité [32,33]. C'est donc la biodisponibilité qui apparaît faible ou nulle. Cette observation est confirmée dans : une étude randomisée double aveugle, contre placebo, le coQ10 n'améliore pas la qualité du sperme [34]. Par contre, pour d'autres patients, ce type de réducteur, en traitement prolongé, « écrase » la production de spermatozoïdes (jusqu'à 10 % de la valeur initiale : T. Amar, communication personnelle).

4.3. La vitamine C

Tout d'abord, il est bien connu que la vitamine C peut avoir, en présence de cations divalents comme le Fe et le Cu, un rôle pro-oxydant : elle peut induire le stress oxydant. Le plus problématique concerne le rôle négatif de doses trop importantes quant à la compaction, i.e., la structure tertiaire du noyau du spermatozoïde. Rappelons que la qualité de la structure tertiaire est absolument indispensable à la qualité du premier cycle cellulaire et au développement embryonnaire précoce qui sera alors tout simplement bloqué [15]. De fait pour que cette fermeture des ponts disulfure se produise (Fig. 4) :

- il faut tout d'abord une première étape d'oxydation, qui va peroxyder les lipides de la membrane du spermatozoïde ;
- dans un deuxième temps, le glutathion présent va s'oxyder, donnant du glutathion oxydé : ce système va régénérer l'intégrité de la membrane du spermatozoïde ;
- puis le glutathion va se réduire, régénérant du glutathion réduit, ce processus se fera en oxydant les cystéines des protamines formant des ponts disulfures, « empaquetant » correctement l'ADN.

Il s'agit d'une cascade de trois oxydation/réduction. La vitamine C est défavorable à deux niveaux, sous réserve, bien entendu, que son niveau augmente dans le sérum, puis dans le plasma séminal : au niveau de l'oxydation primaire de la membrane du spermatozoïde (I), puis dans la phase III. La vitamine C est capable d'ouvrir tous les ponts disulfures des

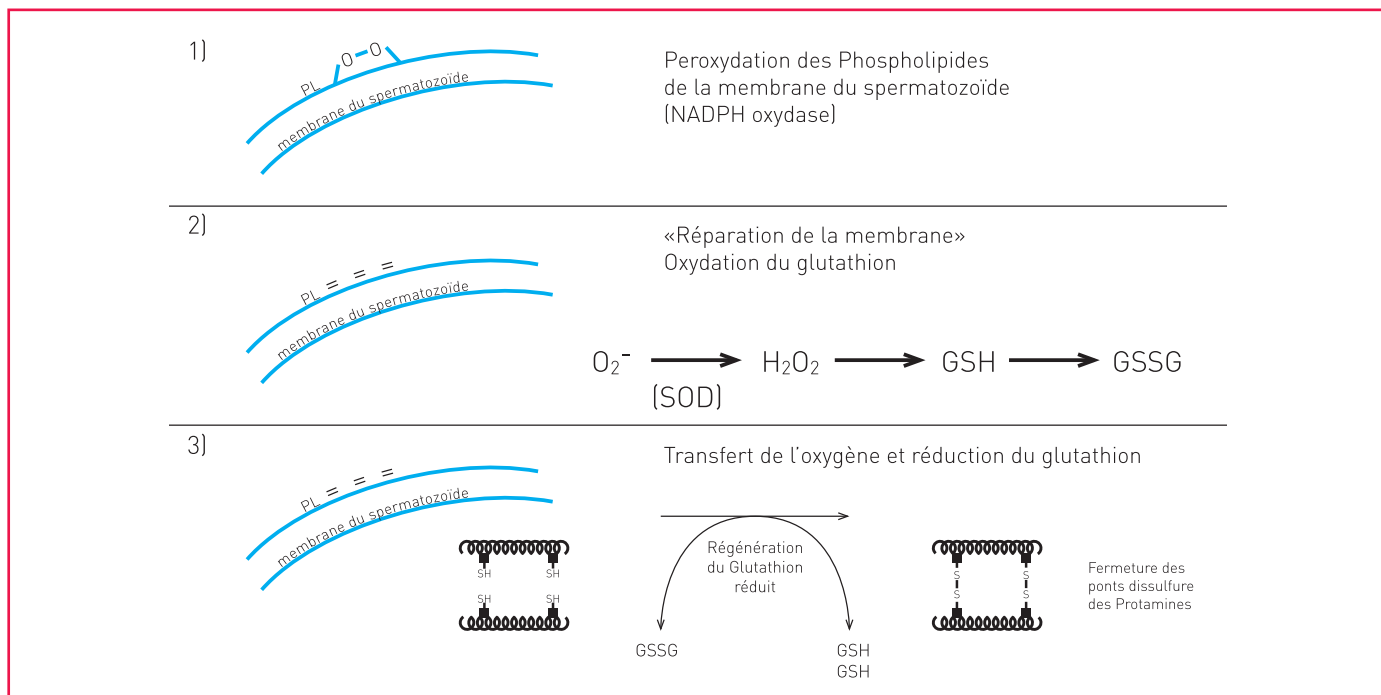


Fig. 4. Compaction de l'ADN du spermatozoïde. Les antioxydants trop fortement dosés (vitamine C) bloquent les étapes de ce processus.

protéines et des protamines en particulier du fait de son potentiel red-Ox. Ce concept est de plus en plus acquis [35,36]. Du fait de son potentiel de dénaturation des protéines circulantes via l'ouverture des ponts disulfures l'ingestion journalière de fortes quantités de vitamine C inquiète [36].

Enfin, la concentration en vitamine C n'est « jamais » un marqueur du stress oxydant [31,37], y compris pour les maladies endocrinologiques, neurovégétatives et même le cancer.

4.4. Superoxyde dismutase

Les traitements à la SOD conduisent aux mêmes résultats négatifs que l'association du Se avec les vitamines C, A et E [14]. Ce type de traitement « décondense » le noyau, sans doute par la même voie, à savoir coupure de cystine de protamines et/ou empêchement de la formation de ces ponts cystine qui « cadénassent l'ADN ».

4.5. Les vitamines A et E

L'association des deux vitamines semble efficace quant à la qualité de la spermatogenèse in vivo [38]. La vitamine E est donnée le plus souvent sous forme d'alpha-tocophérol. Supplémentée seule, elle semble active in vivo, elle joue un rôle plutôt anti-inflammatoire, mais elle peut avoir un effet antifécondation [39] : en bloquant la réaction acrosomique, processus indispensable à la pénétration du spermatozoïde dans l'ovocyte in vivo. Elle est efficace in vitro quand elle est ajoutée aux milieux de manipulation et de congélation des spermatozoïdes. La vitamine E est protectrice des membranes

mais l'équilibre alpha (forme synthétique)/gamma tocophérol (forme naturelle) pose question. Une concentration sérique en vitamine E diminuée est associée à des pathologies endocrinologiques, psychiatriques et à des syndromes infectieux. Pour le bêta-carotène, on ne trouve quasiment jamais de corrélation entre teneur en bêta-carotène dans le sang et pathologies endocrinologiques [31] ou autres, liées au stress oxydant.

5. NOUVELLES APPROCHES

Il faut clairement rappeler ici que le spermogramme ne permet pas d'approcher la qualité du noyau du spermatozoïde. Les formes anormales peuvent, dans les cas les plus extrêmes, donner une indication mais les corrélations entre fragmentation de l'ADN et ou décondensation et les formes anormales sont très faibles et en tout cas restent du domaine statistique. En ce qui concerne la fragmentation de l'ADN (les cassures des brins d'ADN liées aux RLO, effecteurs du stress oxydant), la littérature scientifique a établi un consensus qui se situe autour de 30 %, et ce quelle que soit la technique utilisée. Au-delà de cette limite, les problèmes de fertilité apparaissent, plus sensibles pour l'insémination que pour la fécondation in vitro et l'ICSI [40,41]. Au-delà de 50 %, les chances de conception sont quasiment nulles. La fragmentation de l'ADN et la méthylation globale de l'ADN sont significativement inversement corrélées [42], chez les hommes infertiles. La méthylation de l'ADN est un processus épigénétique, qui, entre autres, stabilise le génome [43]. De plus, dans la même logique biochimique, une faible teneur en folate (intermédiaire important dans le processus de méthylation et de recyclage de l'homocystéine [Hcy], Fig. 6) et les dommages de l'ADN sont également

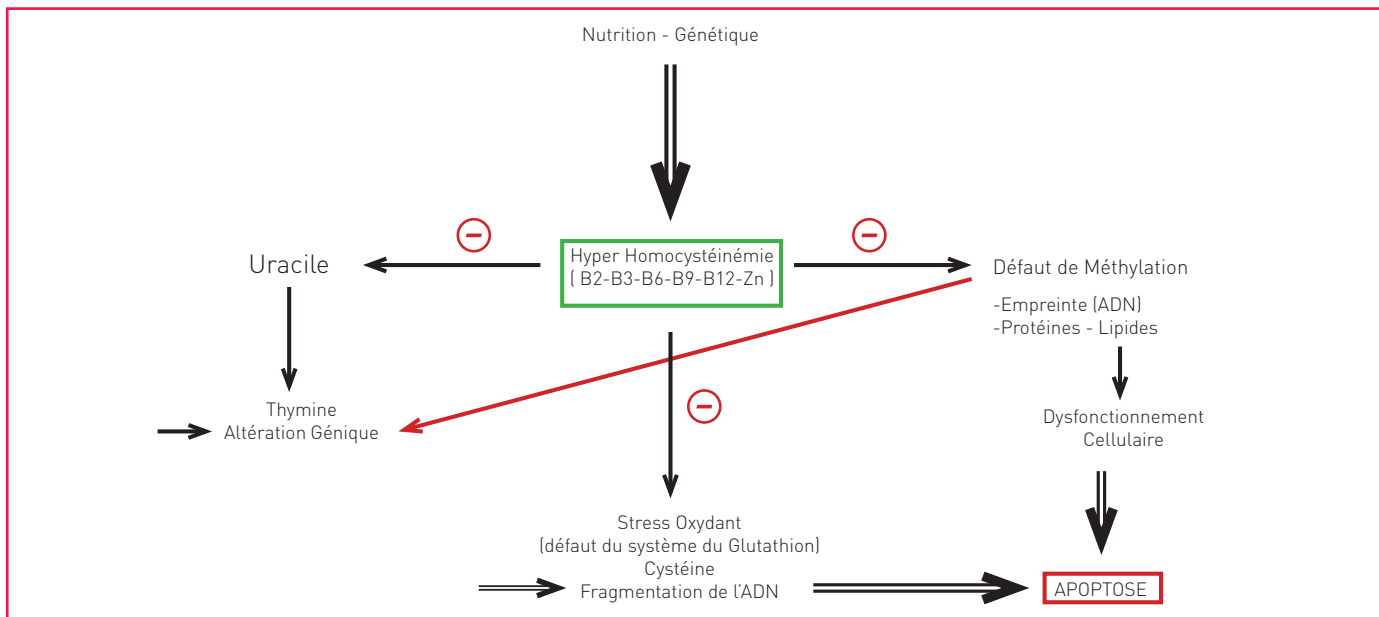


Fig. 5. Hyperhomocystéinémie. Anomalies de la reproduction et du développement.

fortement corrélés [44]. La concentration en B12 (autre effecteur majeur dans le cycle de la méthylation, Fig. 6) dans le plasma séminal est fortement corrélée à la concentration en spermatozoïdes [45]. La teneur en Zn du plasma séminal est aussi liée à qualité du sperme ; par ailleurs, s'il n'existe pas de carences en Se décrites, ce n'est pas le cas du Zn. Pour le

Centers for Disease Control National Center for Health Statistics (CDC/NCHS) américain, 15 % de la population nord-américaine souffre de carences en Zn (rapport 2007). Le Zn est cofacteur dans trois étapes du recyclage de l'Hcy (Fig. 5 et 6) Toutes ces observations « mettent en accusation » des anomalies du recyclage de l'Hcy (Fig. 5 et 6). L'Hcy est un

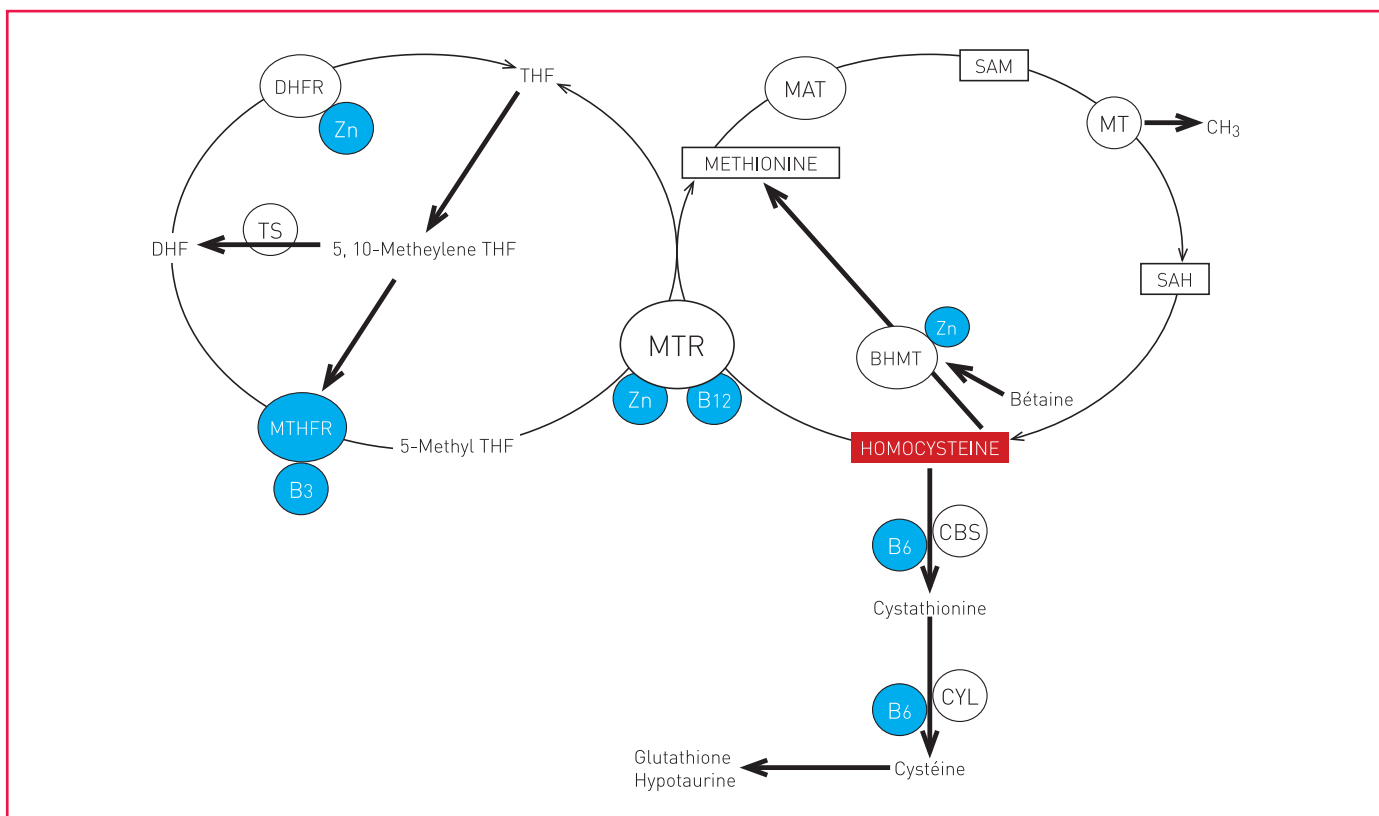


Fig. 6. Implication des vitamines du groupe B et du zinc dans le recyclage de l'homocystéine.

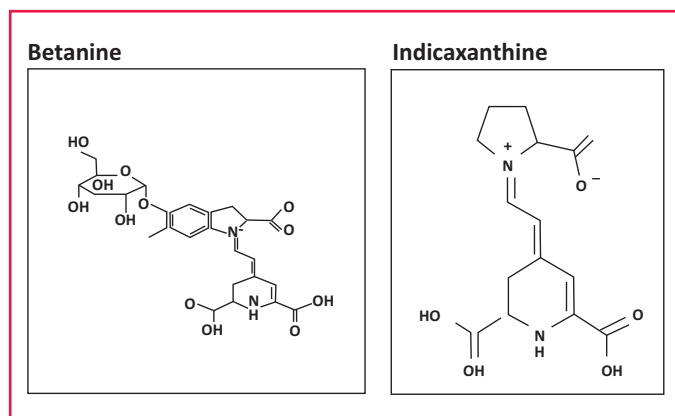


Fig. 7. Structure chimique des bêtaïnes (figue de barbarie – *opuntia ficus indica*).

facteur extrêmement négatif affectant la gamétogénèse male (mais aussi l'ovogénèse). Ce composé affecte les régulations épigénétiques (méthylation) : il se comporte donc également comme un dérégulateur du développement en général (Fig. 5). Il est donc simplement impératif d'associer toutes les vitamines du groupe B, et non pas l'acide folique seul, à tout traitement de régularisation de la fertilité, après control, avant et pendant la grossesse. Par ailleurs, Il est important de rappeler ici quelques éléments fondamentaux concernant le stress oxydant, la spermatogénèse et la relation avec le glutathion et l'Hcy ; le glutathion est le protecteur naturel endogène universel contre les dégâts liés aux RLO. Il est donc important de monter la concentration en glutathion réduit dans l'environnement du spermatozoïde. Cette observation n'est d'ailleurs pas spécifique à la spermatogénèse car une teneur en glutathion trop faible et/ou un rapport glutathion réduit/glutathion oxydé anormal dans le sérum sont des marqueurs ubiquitaires des pathologies (Endocrinologiques, Psychiatriques, neurovégétatives, rhumatoïdes [14]). Tous ces éléments plaident en faveur d'un traitement du stress oxydant basé sur la stimulation de la synthèse du glutathion endogène et du recyclage de l'Hcy plutôt que par une distribution de vitamines ayant un pouvoir réducteur élevé, et dont on ne connaît pas la pharmacocinétique. Le concept « Hcy cause et conséquence du stress oxydant » semble de plus en plus évident [46,47]. Pour ces auteurs, il faut, pour lutter contre le stress oxydant et les pathologies épigénétiques associées à la méthylation, associer les vitamines du groupe B et le Zn à de faibles quantités d'agents réducteurs plus doux (polyphénols, bêtaïnes, Fig. 7).

5.1. La stimulation de la synthèse du glutathion endogène : soutien de la lignée germinale

Un groupe de molécules correspond tout à fait à cette nécessité : la quercétine appelée également quercetol qui est un flavonoïde de type flavonol. La quercétine passe dans la circulation sanguine et ses métabolites ont une durée de vie longue. Elle est inhibitrice du TNF-alpha et interleukine-8 impliquées dans les processus d'inflammation. Les

glycosides qui peuvent exister dans certains fruits à l'état naturel sont hydrolysés par des enzymes de l'intestin grêle et sont ensuite absorbés. Les métabolites formes dans le sang, glucuronides, sulfates et méthyle, sont légèrement moins actifs que le produit naturel, mais ont des durées de vie très longues (plus de dix heures). L'impact positif de la quercétine sur la lignée germinale et sur le sperme plus particulièrement, n'est pas réellement nouveau. Il date de la fin des années 1980 [48]. Elle protège contre l'agression des polluants (hydrocarbures, hormones oestrogéniques [49]) sur la spermatogénèse. De plus, la quercétine passe dans le sang, elle module et optimise la réponse au stress oxydant chez les gros fumeurs [50]. Les mécanismes d'action sont de mieux en mieux connus : les aliments riches en quercétine augmentent la synthèse de 15 ARN messagers impliqués dans les mécanismes de réparation de l'ADN et quatre impliqués dans l'apoptose [50]. Enfin, elle module l'expression de la γ -glutamylcysteine synthétase : qui est l'étape limitant la synthèse du glutathion endogène, qui augmentée notamment dans le muscle [51].

Nous avons vu que les antioxydants forts ont un impact plutôt aléatoire, voire négatif sur la spermatogénèse. Par contre, il est non moins vrai que la peroxydation des lipides de la membrane des spermatozoïdes a un impact négatif sur la mobilité, surtout d'ailleurs quand ils sont immatures [19]. Les bêtaïnes sont une réponse assez satisfaisante à cet aspect du problème par leur effet protecteur des lipides membranaires. Du fait de leur structure, elles se fixent sur les lipides membranaires et s'oxydent à leur place, puis se détachent. Grâce à cette faculté, elles ralentissent la division cellulaire anarchique et elles induisent la mort cellulaire programmée de certaines lignées de cellules cancéreuses in vitro [52]. En spermologie, elles améliorent significativement la mobilité des spermatozoïdes [53], ce qui est parfaitement cohérent avec la protection des lipides membranaires du spermatozoïde. Ces composés rentrent parfaitement dans les nouveaux concepts du traitement du stress oxydant [46,47]. Bêtaïnes et quercétines sont des composés d'origine végétale : le fruit qui réalise la meilleure synthèse de ces deux composés est la figue de barbarie (*opuntia : ficus indica*).

6. POUR LA FEMME : AUGMENTER LA COMPÉTENCE ET LES CAPACITÉS DE RÉPARATION DE L'OVOCYTE

Il est naturellement impossible d'avoir un accès à l'ADN de l'ovocyte. Un certain nombre d'observations indirectes permet cependant une réflexion. Pour le recyclage de l'Hcy ; de nombreuses études ont montré clairement que la stimulation ovarienne augmente la concentration en Hcy dans le liquide folliculaire [54–56]. Hcy passe dans l'ovocyte et inhibe les méthylation en entrant en compétition avec la méthionine [57]. Le risque majeur qui peut être associé est de favoriser les anomalies épigénétiques conduisant entre autre à des maladies dites d'empreinte. Les composés favorisant le recyclage de l'Hcy (Zn + toutes les vitamines B) sont donc bienvenus. Ceci est particulièrement vrai chez la femme du fait que l'ovocyte

humain et le tout jeune embryon sont jusqu'à j3 post-conception, très mal équipés pour recycler l'Hcy. La voie de la BHMT, bétaine Hcy méthyle-transférase est absente [58]. Ceci limite aussi la synthèse endogène du glutathion devant protéger le jeune embryon, impliquant qu'en plus de l'acide folique les vitamines B2 et B12 peuvent être limitantes. Les techniques de procréation médicalement assistée ont clairement démontré la réalité de ce problème de méthylation [59,60]. Enfin en ce qui concerne la qualité de l'ADN de l'ovocyte, des études ont montré que l'ADN de l'ovocyte peut être aussi la cible du stress oxydant (et de la fragmentation en résultant [12] et de la formation d'adduits [3,11]). Chez les fumeuses, les goudrons formant des adduits avec l'ADN, se retrouvent dans les cellules ovariennes, l'ovocyte et l'embryon préimplantatoire. L'environnement de l'ovocyte, lors de sa longue quiescence, ne le protège pas du stress oxydant.

7. CONCLUSION

Lorsque l'on parle du stress oxydant, il n'est plus possible de tout mélanger : beauté, anti-âge, anti vieillissement et... hypofertilité du couple. Le terme stress oxydant ne recouvre pas du tout les mêmes problématiques. D'ailleurs, quel que soit le problème abordé, il apparaît que les réponses apportées sont le plus souvent extrêmement peu scientifique. Ainsi, pour le Se, il n'existe pas de carence décrite. À trop forte dose il est pro-apoptotique (déclenche la mort cellulaire programmée) ou même cancérigène. Même constat pour le coQ10 : les carences n'existent que dans le cas de pathologies graves. La vitamine C, à forte dose et en traitement prolongé a des effets ambigus, surtout dans le cas d'une utilisation pour améliorer le sperme. Les effets attendus ne sont pas ceux que l'on peut attendre de la nutrition.

A contrario, tout ce qui contribue à une meilleure efficacité des systèmes de méthylation, ce qui améliore le recyclage de l'Hcy est important dans le cadre de l'amélioration des gamètes et en général de la procréation. Aussi, si des carences en Se n'existent que peu ou pas, il est admis qu'environ. 15 % de la population d'Amérique du Nord présente une carence en Zn [61,62], ce qui augmente les risques de cancer. Il est aussi un effecteur de stabilité du génome, en plus de son rôle majeur dans le recyclage de l'Hcy. Les transporteurs de Zn sont fortement exprimés dans l'ovocyte [63] ; les métallothionéines et la Zn SOD sont des protecteurs efficaces contre les dégâts de l'ADN ; le Zn joue un rôle pivot dans tous le processus de reproduction (comme dans la croissance et la lactation). Dans le même ordre d'idée, l'acide folique est donné en complément pour le début de la grossesse : pourquoi au début de la grossesse et pas avant la conception du fait de l'action délétère de l'Hcy [46,47] et pourquoi la B9 seule alors qu'elle n'est qu'un des rouages du recyclage de l'Hcy. La Fig. 6 indique clairement que la B12, comme la B3 et la B6 ont un rôle majeur dans le cycle de l'acide folique. La vitamine B12 est incontournable pour la formation de méthionine. La B6 participe également à la formation de la cystéine et en aval, du glutathion. L'addition de B9 seule n'apportera rien en cas de carence en B3 et surtout B6 et B12. L'Hcy continuera à être en excès, et il y aura

accumulation de vitamines en « amont » du site du blocage du recyclage de l'Hcy. L'addition d'acide folique seul est un concept bien trop étroit, ne tenant pas compte de la réalité physiologique.

Enfin, il faut tenir compte du fait que les deux types majeurs de dégâts de l'ADN du sperme requièrent des traitements et des durées de traitement différentes. Ainsi, la récupération de la compaction de l'ADN peut se prolonger pendant plusieurs cycles de spermatogenèse.

Le traitement des problèmes du sperme nécessite une approche plus scientifique que ce qui a été proposé jusqu'à présent, qui n'est souvent que la généralisation d'informations ponctuelles de la littérature scientifique sans analyse approfondie ni de la biochimie, ni de la physiologie.

DÉCLARATION D'INTÉRÊTS

Les auteurs déclarent ne pas avoir de conflits d'intérêts en relation avec cet article.

RÉFÉRENCES

- [1] Guérin P, El Mouatassim S, Ménézo Y. Oxidative stress and protection against reactive oxygen species in the pre-implantation embryo and its surroundings. *Hum Reprod Update* 2001;7:175–89.
- [2] Kao SH, Chao HT, Chen HW, Hwang TI, Liao TL, Wei YH. Increase of oxidative stress in human sperm with lower motility. *Fertil Steril* 2008;89:1183–90.
- [3] Zenzes MT. Smoking and reproduction: gene damage to human gametes and embryos. *Hum Reprod Update* 2000;6:122–3.
- [4] Aitken RJ, Baker MA, Sawyer D. Oxidative stress in the male germ line and its role in the aetiology of male infertility and genetic disease. *Reprod BioMed Online* 2003;7:65–7.
- [5] Fernández-Gonzalez R, Moreira PN, Pérez-Crespo M, Sánchez-Martín M, Ramirez MA, Pericuesta E, et al. Long-term effects of mouse intracytoplasmic sperm injection with DNA-fragmented sperm on health and behavior of adult offspring. *Biol Reprod* 2008;78:761–72.
- [6] Badouard C, Ménézo Y, Panteix G, et al. Determination of new types of DNA lesions in human sperm. *Zygote* 2008;16:9–13.
- [7] Ménézo Y, Dale B, Cohen M. DNA damage and repair in human oocytes and embryos: a review. *Zygote* 2010;18:357–65.
- [8] Menezes Jr Y, Russo G, Tosti E, El Mouatassim S, Benkhalifa M. Expression profile of genes coding for DNA repair in human oocytes using pangenomic microarrays, with a special focus on ROS linked decays. *J Assist Reprod Genet* 2007;24:513–20.
- [9] Jaroudi S, Kakourou G, Cawood S, Doshi A, Ranieri DM, Serhal P, et al. Expression profiling of DNA repair genes in human oocytes and blastocysts using microarrays. *Hum Reprod* 2009;24:2649–55.
- [10] Fragouli E, Bianchi V, Patrizio P, Obradors A, Huang Z, Borini A, et al. Transcriptomic profiling of human oocytes: association of meiotic aneuploidy and altered oocyte gene expression. *Mol Hum Reprod* 2010;16:570–82.
- [11] Zenzes MT, Puy LA, Bielecki R. Immunodetection of benzo[a]pyrene adducts in ovarian cells of women exposed to cigarette smoke. *Mol Hum Reprod* 1998;4:159–65.
- [12] Lopes S, Jurisicova A, Casper RF. Gamete-specific DNA fragmentation in unfertilized human oocytes after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1998;13:703–8.
- [13] Derijck A, van der Heijden G, Giele M, Philippens M, de Boer PDNA. double-strand break repair in parental chromatin of mouse zygotes, the first cell cycle as an origin of de novo mutation. *Hum Mol Genet* 2008;17:1922–37.

- [14] Ménézó Y, Hazout A, Panteix G, Robert F, Rollet J, Cohen-Bacrie P, et al. Antioxidants to reduce sperm DNA fragmentation: an unexpected adverse effect. *Reprod Biomed Online* 2007;14:418–21.
- [15] Rousseaux S, Reynoird N, Escoffier E, Thevenon J, Caron C, Khochbin S. Epigenetic reprogramming of the male genome during gametogenesis and in the zygote. *Reprod Biomed Online* 2008;16:492–503.
- [16] Gharagozloo P, Aitken RJ. The role of sperm oxidative stress in male infertility and the significance of oral antioxidant therapy. *Hum Reprod* 2011;26:1628–40.
- [17] Evenson DP, Darzynkiewicz Z, Melamed MR. Relation of mammalian sperm chromatin heterogeneity to fertility. *Science* 1980;210:1131–3.
- [18] Belloc S, Benkhalifa M, Junca AM, Dumont M, Bacrie PC, Ménézó Y. Paternal age and sperm DNA decay: discrepancy between chromomycin and aniline blue staining. *Reprod Biomed Online* 2009;19:264–9.
- [19] Montjean D, Ménézó Y, Benkhalifa M, Cohen M, Belloc S, Cohen-Bacrie P, et al. Malonaldehyde formation and DNA fragmentation: two independent sperm decays linked to reactive oxygen species. *Zygote* 2010;18:265–8.
- [20] Aitken RJ, Wingate JK, De luliis GN, Koppers AJ, McLaughlin EA. Cis-unsaturated fatty acids stimulate reactive oxygen species generation and lipid peroxidation in human spermatozoa. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:4154–63.
- [21] Ursini F, Maiorino M, Roveri A. Phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx): more than an antioxidant enzyme? *Biomed Environ Sci* 1997;10:327–32.
- [22] Bleau G, Lemarbre J, Faucher G, Roberts KD, Chapdelaine A. Semen selenium and human fertility. *Fertil Steril* 1984;42:890–4.
- [23] Hawkes WC, Alkan Z, Wong K. Selenium supplementation does not affect testicular selenium status or semen quality in North American men. *J Androl* 2009;30:525–33.
- [24] Combs Jr GF, Watts JC, Jackson MI, Johnson LK, Zeng H, Scheett AJ, et al. Determinants of selenium status in healthy adults. *Nutr J* 2011;10:75.
- [25] Koppers AJ, De luliis GN, Finnie JM, McLaughlin EA, Aitken RJ. Significance of mitochondrial reactive oxygen species in the generation of oxidative stress in spermatozoa. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:3199–207.
- [26] Hartwig A, Blessing H, Schwerdtle T, Walter I. Modulation of DNA repair processes by arsenic and selenium compounds. *Toxicology* 2003;193:161–9.
- [27] Davis CD, Uthus EO. Dietary folate and selenium affect dimethylhydrazine-induced aberrant crypt formation, global DNA methylation and one-carbon metabolism in rats. *J Nutr* 2003;133:2907–14.
- [28] Davis CD, Uthus EO, Finley JW. Dietary selenium and arsenic affect DNA methylation in vitro in Caco-2 cells and in vivo in rat liver and colon. *J Nutr* 2000;130:2903–9.
- [29] Li P, Zhong Y, Jiang X, Wang C, Zuo Z, Sha A. Seminal plasma metals concentration with respect to semen quality. *Biol Trace Elem Res* 2012 [Epub ahead of print].
- [30] Hawkes WC, Turek PJ. Effects of dietary selenium on sperm motility in healthy men. *J Androl* 2001;22:764–72.
- [31] Brack M, Brack O, Bonnefont-Rousselot D, Dreyfus G, Chapman J, Kontush A. Distinct profiles of systemic biomarkers of oxidative stress in chronic human pathologies: cardiovascular, psychiatric, neurovegetative, rheumatic, infectious, neoplastic and endocrinological diseases. 2012 [In press].
- [32] Villalba JM, Parrado C, Santos-Gonzalez M, Alcain FJ. Therapeutic use of coenzyme Q10 and coenzyme Q10-related compounds and formulations. *Expert Opin Investig Drugs* 2010;19:535–54.
- [33] Liu ZX, Artmann C. Relative bioavailability comparison of different coenzyme Q10 formulations with a novel delivery system. *Altern Ther Health Med* 2009;15:42–6.
- [34] Nadjarzadeh A, Sadeghi MR, Amirjannati N, Vafa MR, Motevalian SA, Gohari MR, et al. Coenzyme Q10 improves seminal oxidative defense but does not affect on semen parameters in idiopathic oligoasthenoteratozoospermia: a randomized double-blind, placebo controlled trial. *J Endocrinol Invest* 2011 [Epub ahead of print].
- [35] Donnelly ET, McClure N, Lewis SE. The effect of ascorbate and alpha-tocopherol supplementation in vitro on DNA integrity and hydrogen peroxide-induced DNA damage in human spermatozoa. *Mutagenesis* 1999;14:505–12.
- [36] Giustarini D, Dalle-Donne I, Colombo R, Milzani A, Rossi R. Is ascorbate able to reduce disulfide bridges? A cautionary note. *Nitric Oxide* 2008;19:252–8.
- [37] de la Villehuchet AM, Brack M, Dreyfus G, Oussar Y, Bonnefont-Rousselot D, Chapman MJ, et al. A machine-learning approach to the prediction of oxidative stress in chronic inflammatory disease. *Redox Rep* 2009;14:23–33.
- [38] Almbro M, Dowling DK, Simmons LW. Effects of vitamin E and beta-carotene on sperm competitiveness. *Ecol Lett* 2011;14:891–5.
- [39] Dalvit GC, Cetica PD, Beconi MT. Effect of alpha-tocopherol and ascorbic acid on bovine in vitro fertilization. *Theriogenology* 1998;49:619–27.
- [40] Bungum M, Bungum L, Giwercman A. Sperm chromatin structure assay (SCSA): a tool in diagnosis and treatment of infertility. *Asian J Androl* 2011;13:69–75.
- [41] Frydman N, Prisant N, Hesters L, Frydman R, Tachdjian G, Cohen-Bacrie P, et al. Adequate ovarian follicular status does not prevent the decrease in pregnancy rates associated with high sperm DNA fragmentation. *Fertil Steril* 2008;89:92–7.
- [42] Tunc O, Tremellen K. Oxidative DNA damage impairs global sperm DNA methylation in infertile men. *Assist Reprod Genet* 2009;26:537–44.
- [43] Cooney CA, Dave AA, Wolff GL. Maternal methyl supplements in mice affect epigenetic variation and DNA methylation of offspring. *J Nutr* 2002;132:2393S–400S.
- [44] Boxmeer JC, Smit M, Utomo E, Romijn JC, Eijkemans MJ, Lindemans J, et al. Low folate in seminal plasma is associated with increased sperm DNA damage. *Fertil Steril* 2009;92:548–56.
- [45] Boxmeer JC, Smit M, Weber RF, Lindemans J, Romijn JC, Eijkemans MJ, et al. Seminal plasma cobalamin significantly correlates with sperm concentration in men undergoing IVF or ICSI procedures. *J Androl* 2007;28:521–7.
- [46] Hoffman M. Hypothesis: hyperhomocysteinemia is an indicator of oxidant stress. *Med Hypotheses* 2011;77:1088–93.
- [47] Ménézó Y, Mares P, Cohen M, Brack M, Viville S, Elder K. Autism, imprinting and epigenetic disorders: a metabolic syndrome linked to anomalies in homocysteine recycling starting in early life? *J Assist Reprod Genet* 2011;28:1143–5.
- [48] Hammerstedt RH, Volonté C, Racker E. 1988 Motility, heat, and lactate production in ejaculated bovine sperm. *Arch Biochem Biophys* 1988;266:111–23.
- [49] Izawa H, Kohara M, Aizawa K, Suganuma H, Inakuma T, Watanabe G, et al. Alleviative effects of quercetin and onion on male reproductive toxicity induced by diesel exhaust particles. *Biosci Biotechnol Biochem* 2008;72:1235–41.
- [50] Bøhn SK, Myhrstad MC, Thoresen M, Holden M, Karlsen A, Tunheim SH, et al. Blood cell gene expression associated with cellular stress defense is modulated by antioxidant-rich food in a randomised controlled clinical trial of male smokers. *BMC Med* 2010;8:54–69.
- [51] Moskaug JØ, Carlsen H, Myhrstad MC, Blomhoff R. Polyphenols and glutathione synthesis regulation. *Am J Clin Nutr* 2005;81:277S–83S.
- [52] Sreerkanth D, Arunasree MK, Roy KR, Chandramohan Reddy T, Reddy GV, Reddanna P. Betanin a betacyanin pigment purified from fruits of *Opuntia ficus-indica* induces apoptosis in human chronic myeloid leukemia Cell line-K562. *Phytomedicine* 2007;14:739–46.
- [53] Benkalifa M, Cohen M, Tosti E, Cohen-Bacrie P, Ballashova E, Menezó Y. New concept for antioxidant treatments for sperm DNA structure alteration. Barcelona, Spain: International congress of Andrology, ICA; 2009.
- [54] Berker B, Kaya C, Aytac R, Satioglu H. Homocysteine concentrations in follicular fluid are associated with poor oocyte and embryo qualities in polycystic ovary syndrome patients undergoing assisted reproduction. *Hum Reprod* 2009;24:2293–302.
- [55] Ebisch IM, Thomas CM, Peters WH, Braat DD, Steegers-Theunissen RP. The importance of folate, zinc and antioxidants in the pathogenesis and prevention of subfertility. *Hum Reprod Update* 2007;13:163–74.

- [56] Ebisch IM, Peters WH, Thomas CM, Wetzels AM, Peer PG, Steegers-Theunissen RP. Homocysteine, glutathione and related thiols affect fertility parameters in the (sub)fertile couple. *Hum Reprod* 2006;21:1725–33.
- [57] Menezo Y, Khatchadourian C, Gharib A, Hamidi J, Greenland T, Sarda N. Regulation of S-adenosyl methionine synthesis in the mouse embryo. *Life Sci* 1989;44:1601–9.
- [58] Benkhalifa M, Montjean D, Cohen-Bacrie P, Ménézo Y. Imprinting: RNA expression for homocysteine recycling in the human oocyte. *Fertil Steril* 2010;93:1585–90.
- [59] Katari S, Turan N, Bibikova M, et al. DNA methylation and gene expression differences in children conceived in vitro or in vivo. *Hum Mol Genet* 2009;18:3769–78.
- [60] Menezo Y, Elder K, Benkhalifa M, Dale B. DNA methylation and gene expression in IVF. *Reprod Biomed Online* 2010;20:709–10.
- [61] King JC, Shames DM, Woodhouse LR. Zinc homeostasis in humans. *J Nutr* 2000;130:1360S–6.
- [62] Centers for Disease Control and Prevention (CDC), National Center for Health Statistics (NCHS), National Health and Nutrition Examination Survey Questionnaire. Hyattsville, MD 2001–2002. Available from: <http://www.cdc.gov/nchs/about/major/nhanes/nhanes01-02.htm> (cited 1st May 2007).
- [63] Menezo Y, Ménézo Y, Pluntz L, Chouteau J, Gurgan T, Demirel A, et al. Zinc concentrations in serum and follicular fluid during ovarian stimulation and expression of Zn²⁺ transporters in human oocytes and cumulus cells. *Reprod Biomed Online* 2011;22:647–52.