

# Revue

## Les carnitines et l'infertilité masculine

Le Dr. Ashok Agarwal est Directeur de la Recherche au Centre de Recherche avancée en Reproduction humaine, en Infertilité et en Fonction sexuelle et également Directeur du Laboratoire d'Andrologie clinique et de la Banque des Tissus reproducteurs. Il occupe ces postes au sein de la Fondation clinique de Cleveland, Ohio, Etats-Unis, où il fait partie intégrante de l'équipe de l'Institut d'Urologie Glickman, Départements Obstétrique-Gynécologie, Pathologie anatomique et Immunologie depuis 1993. Le Dr. Agarwal a publié de très nombreux articles dans divers domaines de l'Andrologie. Ses intérêts de recherche actuels portent sur le rôle du stress oxydatif, l'intégrité de l'ADN et l'apoptose sur le plan de la pathophysiologie de la reproduction chez l'homme et la femme, la cryoconservation de spermatozoïdes parmi des patients atteints de cancer, la physiologie épидидymale et la pathophysiologie de la dysfonction sexuelle.

*Dr. Ashok Agarwal*

A Agarwal<sup>1</sup>, Tamer M Said  
Centre for Advanced Research in Human Reproduction, Infertility, and Sexual Function, Glickman Urological Institute (*Centre de Recherche avancée en Reproduction humaine, en Infertilité et en Fonction sexuelle, Institut d'Urologie Glickman*) et Department of Obstetrics and Gynecology, The Cleveland Clinic Foundation (*Département d'Obstétrique et de Gynécologie, Fondation clinique de Cleveland*), 9500 Euclid Avenue, Desk A19.1, Cleveland, OH 44195, Etats-Unis

<sup>1</sup>Correspondence: Tél. : +1 216 4449485; Fax: +1 216 4456049; [e-mail: agarwaa@ccf.org](mailto:agarwaa@ccf.org)

### Résumé

La L-Carnitine (LC) et l'acétyl-L-carnitine (ALC) sont hautement concentrées dans l'épididyme et jouent un rôle crucial sur le plan du métabolisme et de la maturation des spermatozoïdes. Elles sont associées à la motilité des spermatozoïdes et présentent des propriétés antioxydantes. L'objectif de cette revue consiste à résumer les rôles multiples joués par la LC et l'ALC dans la reproduction masculine et à mettre en évidence leurs limites de même que leurs bénéfices dans le traitement de l'infertilité masculine. Différentes études soutiennent la conclusion selon laquelle la LC et/ou l'ALC, moyennant des dosages quotidiens totaux de 3g par jour, peuvent améliorer de façon significative la concentration en spermatozoïdes et la quantité totale de spermatozoïdes parmi des hommes souffrant d'asthénospermie ou d'oligoasthénospermie. Bien que de nombreux essais cliniques aient démontré les effets bénéfiques de la LC et de l'ALC dans des cas sélectionnés d'infertilité masculine, la majorité de ces études souffrent d'un manque de concept contrôlé par placebo, à double insu, ce qui permet difficilement de tirer une conclusion définitive. En outre, des études judicieusement conçues s'imposent pour valider l'utilisation de carnitines dans le traitement de patients souffrant d'infertilité masculine, plus particulièrement chez les hommes dont la qualité du sperme laisse à désirer.

*Mots clé : acétyl-L-carnitine, carnitine, infertilité masculine, spermatozoïdes*

### Introduction

Les carnitines sont des composés hautement polaires qui sont largement distribués à l'état naturel. Les besoins humains en carnitines sont comblés par biosynthèse endogène et moyennant un régime (Bieber, 1988). Dans le système génital masculin, les carnitines sont concentrées dans l'épididyme et les spermatozoïdes. Bien qu'on en trouve dans le fluide séminal éjaculé, la majeure partie de la L-carnitine (LC) et de l'acétyl-L-carnitine (ALC) se trouve dans le plasma séminal et l'on en trouve très peu dans le spermatozoïde en soi (Bohmer *et al.*, 1978).

La L-Carnitine et l'ALC jouent un rôle clé dans le métabolisme des spermatozoïdes en fournissant une énergie directement disponible qui peut être utilisée par les spermatozoïdes, ce qui affecte positivement la motilité, la maturation et le processus spermatogène des spermatozoïdes. Cet effet béné-

fique est renforcé par le transport d'acides gras à longue chaîne au travers de la membrane interne des mitochondries pour utilisation dans le métabolisme par  $\beta$ -oxydation (Matalliotakis *et al.*, 2000). Les carnitines jouent également un rôle protecteur contre les dérivés réactifs de l'oxygène (DRO) grâce à leurs propriétés antioxydantes. Ces propriétés résultent d'un mécanisme de réparation en fonction duquel l'acétylcoenzyme A toxique, intracellulaire et élevée (acétyl-CoA) est éliminée et/ou les acides gras dans les phospholipides membranaires sont remplacés (Vicari et Calogero, 2001). En fonction de ces rôles fondamentaux, de nombreux essais cliniques ont essayé de démontrer un effet thérapeutique bénéfique de la LC et/ou de l'ALC en cas d'administration à des hommes infertiles atteints de différentes formes de dysfonction des spermatozoïdes. De plus, différentes études *in vitro* ont documenté le fait que les carnitines renforcent la motilité des spermatozoïdes lorsqu'elles sont ajoutées *in vitro* et qu'elles peuvent également avoir un effet cryoprotecteur.

Cet article présente une vue d'ensemble des carnitines, y compris leur structure, leur origine, leur rôle dans la spermatogénèse et leurs effets bénéfiques sur le métabolisme des spermatozoïdes. En outre, il aborde la façon dont ces composés peuvent potentiellement être utilisés afin de diagnostiquer un problème d'infertilité masculine. Enfin, l'article vise à clarifier leurs limites de même que leurs bénéfices dans le traitement de l'infertilité masculine.

## Structure et sources de la carnitine

La L-Carnitine est hautement polaire, hydrosoluble et est une petite amine quaternaire. Par opposition à d'autres organismes, les humains peuvent biosynthétiser la LC de novo ; toutefois, la LC présente dans les tissus humains est essentiellement d'origine exogène (Engle et Rebouche, 1984). La carnitine exogène provient du régime ; elle trouve son origine notamment dans la viande, la volaille, le poisson et les produits laitiers. On a cru pendant longtemps que, comme les humains ont la capacité de synthétiser la carnitine, ce composé n'est pas un composant essentiel du régime. Néanmoins, quand des groupes de végétariens stricts ont été étudiés, les résultats ont démontré que les concentrations plasmatiques moyennes de carnitine étaient significativement inférieures à celles trouvées parmi les sujets de contrôle omnivores respectifs. Ce phénomène peut être attribué au fait que les végétariens stricts consomment moins de 0,1  $\mu\text{mol/kg}$  par jour de carnitine, alors que le régime omnivore moyen fournit une dose journalière de 2-12  $\mu\text{mol/kg}$  (Rebouche, 1988).

## Distribution de carnitine dans le système génital

La L-Carnitine est sécrétée à partir de l'épithélium de mammifères dans le plasma épидидymal et, enfin, dans les spermatozoïdes où elle s'accumule sous forme de L-carnitine libre et acétylée. En règle générale, le système génital de l'homme contient différents compartiments qui conservent les concentrations en carnitine libre les plus élevées dans l'organisme : tissus épидидymaux, plasma séminal et spermatozoïdes. Chez les mammifères, l'origine de la carnitine libre dans le plasma séminal est essentiellement épидидymale.

De nombreuses études ont investigué la présence de carnitine dans le système génital de modèles animaux. Une étude au cours de laquelle du fluide luminal a été récolté par micropuncture à partir du testicule et de l'épididyme de rats a révélé que 1) de la carnitine était présente dans le fluide testiculaire dans des concentrations de l'ordre de  $<1 \mu\text{mol/l}$  et 2) que les concentrations augmentaient à mesure que l'épididyme était transversé et finissaient par atteindre 53  $\mu\text{mol/l}$  dans le fluide luminal à partir de la queue de l'épididyme. La concentration élevée a été tout d'abord trouvée dans le fluide luminal à partir de la tête distale de l'épididyme, environ au point où les spermatozoïdes devenaient mobiles (Hinton *et al.*, 1979). Similairement, l'épididyme humain possède un mécanisme de concentration pour la LC ; sa concentration est entre 10 et 50 fois supérieure dans l'épididyme par rapport au plasma, suivant les mêmes schémas de concentration que chez les rats (Bohmer *et al.*, 1978).

Cette concentration élevée semble être, tout du moins chez les rats, sous contrôle androgène, étant donné que le traitement à base de testostérone de jeunes rats castrés a débouché sur une augmentation des concentrations en carnitine épидидymale et qu'une cryptorchidie chez les animaux adultes a résulté en des concentrations inférieures de carnitine (Brooks *et al.*, 1974). Néanmoins, aucune corrélation n'a été trouvée entre la concentration tissulaire en testostérone dans le testicule et les concentrations de carnitine dans l'épididyme humain. Cette divergence est probablement due au fait que les concentrations de carnitine s'accumulent dans l'organe pendant une longue période, alors que les

concentrations de testostérone changent rapidement en fonction des concentrations de gonadotrophine (Bohmer *et al.*, 1978).

### Transport de carnitine

La LC libre est captée à partir du plasma sanguin dans le lumen épидидymal. Il a été précédemment suggéré que le mécanisme du transport de la LC dans l'épididyme impliquait un système de transport actif composé à la fois d'un transporteur basolatéral et d'un transporteur apical (Yeung *et al.*, 1980). Récemment, un transporteur de cations organiques, à haute affinité et induit par le Na<sup>+</sup>, l'OCTN2, s'est avéré transporter la LC dans les cellules de l'épithélium épидидymal (Rodriguez *et al.*, 2002).

Un autre transporteur de la carnitine, dénommé le transporteur de carnitine 2 (CT2), a été identifié et caractérisé. En comparaison avec l'OCTN2, qui présente une large spécificité de substrat, le CT2 est unique car il s'exprime exclusivement dans le testicule humain et affiche une sélectivité de substrat. La localisation du CT2 a été déterminée par immunohistochimie. Il a été trouvé dans la membrane luminale de l'épididyme humain, ce qui soutient l'hypothèse que le CT2 facilite la sécrétion de LC à partir de l'épithélium épидидymal dans le lumen (Enomoto *et al.*, 2002).

### Fonctions de la carnitine

La carnitine vise essentiellement l'espace matrice au sein des mitochondries qui héberge un système d'enzymes responsables de l'oxydation des acides gras. La LC joue essentiellement un rôle clé dans la  $\beta$ -oxydation mitochondriale d'acides gras à longue chaîne (Jeulin et Lewin, 1996). En fournissant un système de navette pour les acides gras et dérivés de l'acyle-Coenzyme A au sein des mitochondries, la LC régule le flux des groupes acyles et, de ce fait, l'équilibre énergétique au travers des membranes cellulaires. Durant leur passage au travers de la membrane cellulaire, les groupes acyles sont transférés temporairement vers la LC, produisant ainsi de l'ALC. Similairement, la carnitine facilite le transport des groupes acétyles via l'ALC (Figure 1). Le résultat final de ces réactions est une modulation des concentrations mitochondriales du CoA impliqué dans divers schémas métaboliques, par exemple le cycle des acides tricarboxyliques (cycle de Krebs), la  $\beta$ -oxydation d'acides organiques et la dégradation oxydative d'acides aminés (Bahl and Bresler, 1987).

La maturation spermatozoale post-gonadale se déroule principalement au niveau de la tête de l'épididyme, où les spermatozoïdes sont baignés dans du plasma contenant des facteurs d'origine testiculaire et épидидymale. Les spermatozoïdes entrent tout d'abord en contact avec une quantité significative de carnitine dans le lumen épидидymal à l'endroit où ils développent leur capacité de motilité progressive. Par conséquent, une relation pourrait être établie entre l'initiation potentielle d'une motilité progressive des spermatozoïdes (un stade final de la maturation des spermatozoïdes) et l'importante augmentation sur le plan de la concentration à la fois de la LC libre et de l'ALC dans les spermatozoïdes (Jeulin *et al.*, 1987).

Une importante concentration de carnitine a été détectée dans le testicule du rat (la moitié de la concentration épидидymale), ce qui suggère qu'elle joue un rôle au niveau testiculaire. En outre, des concentrations élevées d'ACL-transférases ont été détectées dans des spermatocytes primaires et des tissus testiculaires en développement (Schanbacher *et al.*, 1974). Il se pourrait que la carnitine affecte indirectement la maturation des spermatozoïdes testiculaires moyennant stimulation du captage de glucose des cellules de Sertoli. En règle générale, les cellules de Sertoli représentent un site très important pour le contrôle du processus spermatogène. L'ajoute de LC à des cultures de cellules de Sertoli entraîne une augmentation considérable de la sécrétion de pyruvate et de lactate, qui sont connus pour être des substrats d'énergie essentiels pour la maturation des cellules germinales (Palmero *et al.*, 2000).

Il a été postulé que la concentration élevée de carnitine présente dans le fluide épидидymal sert à maintenir les spermatozoïdes dans un état quiescent (Rufo *et al.*, 1984 ; Deana *et al.*, 1989). L'observation selon laquelle des concentrations élevées de carnitine inhibent l'efflux cellulaire d'enzymes et la consommation d'oxygène et renforcent considérablement la viabilité cellulaire suggère que la carnitine a un effet stabilisateur sur les membranes plasmiques (Jenkins et Griffith, 1986). Cette hypothèse est soutenue par le constat que la carnitine réduit l'occurrence de réactions acrosomales au niveau des spermatozoïdes humains (Deana *et al.*, 1988).

Le stress oxydatif au niveau de la lignée germinale masculine entraîne l'induction de dommages dans les spermatozoïdes et une perte d'intégrité dans le noyau et les mitochondries (Aitken *et al.*, 2003). En règle générale, le réseau biochimique antioxydant peut être dépeint comme un système opérant à deux niveaux différents : une barrière de défense primaire qui évite le dommage oxydatif en désactivant l'espèce initiatrice et un mécanisme de défense secondaire qui finit par réparer le dommage qui s'est produit après l'attaque oxydative (Arduini, 1992). Des suites du stress oxydatif, la fusogénicité de la membrane plasmique des spermatozoïdes est perdue à cause du dommage peroxydatif subi par les acides gras insaturés (Aitken *et al.*, 2003). Il se pourrait que la carnitine élimine l'acétyl-CoA intracellulaire toxique excédentaire, ce qui protège les spermatozoïdes du dommage oxydatif (défense antioxydante primaire) (Arduini, 1992 ; Vicari et Calogero, 2001).

D'autre part, l'ALC inhibe l'incorporation d'acide arachidonique dans les phospholipides. L'acide arachidonique joue en soi un rôle important dans la formation de radicaux libres d'oxygène. En outre, il représente un pool important pour les lysophospholipides accumulés des suites d'une attaque par des radicaux sur les phospholipides membranaires des cellules. Ce rôle est critique en tant que mécanisme de réparation des suites d'une attaque par des DRO (défense antioxydante secondaire) (Pignatelli *et al.*, 2003). Bien que les propriétés protectrices de la carnitine contre les DRO aient été documentées (Schinetti *et al.*, 1989 ; Ochendorf, 1999), son effet effectif sur la qualité des spermatozoïdes reste controversée (Alvarez, 2003).

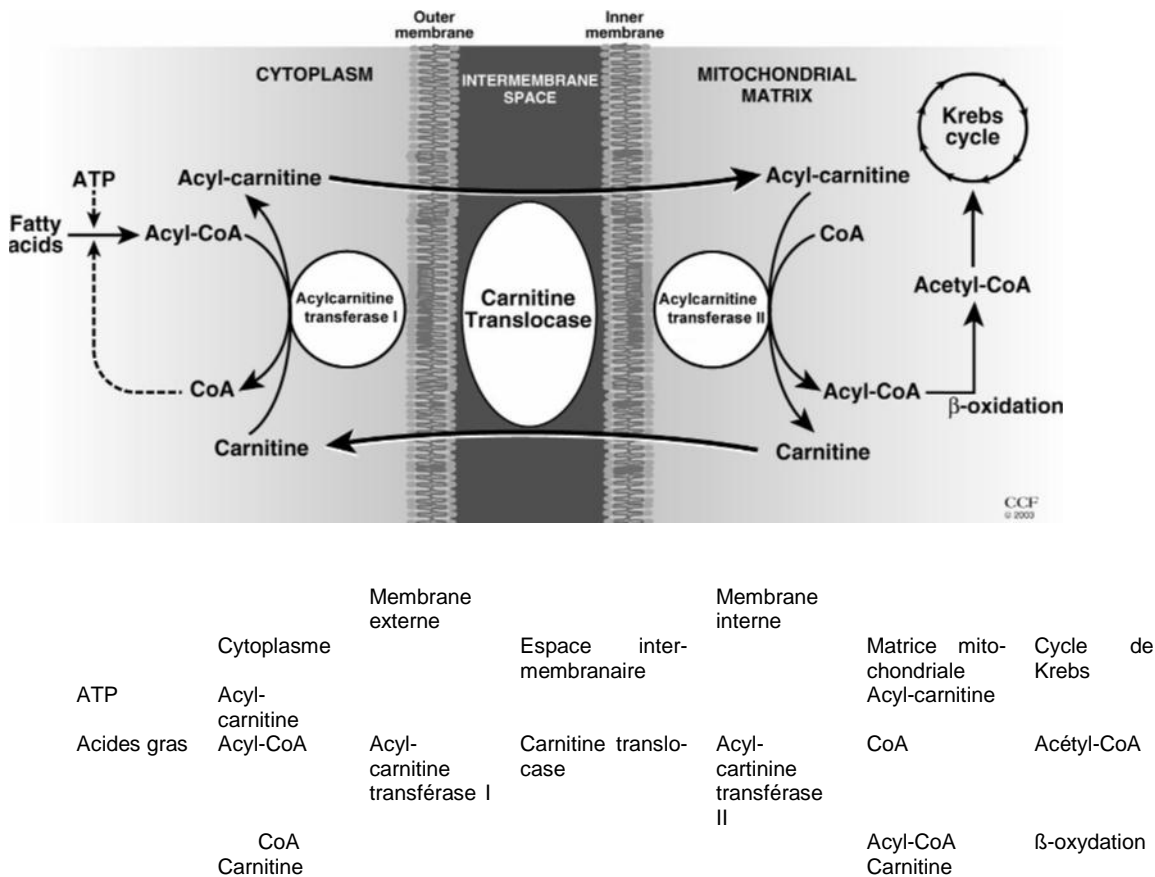


Figure 1. Transport de groupes acyles et le rôle de la carnitine dans le métabolisme mitochondrial des spermatozoïdes.

## La carnitine en tant qu'outil de diagnostic

### Marqueur épидидymal/testiculaire

De nombreuses recherches sont axées sur des marqueurs biochimiques objectifs concernant la maturité et la fonction des spermatozoïdes (Cayli *et al.*, 2003). L'inclusion d'indices de la fonction épидидymale dans l'analyse du sperme a été recommandée étant donné que l'épididyme est intimement impliqué dans la préparation de spermatozoïdes pour fécondation (Wetterauer, 1986). L'élément le plus important réside dans les rapports indiquant que les spermatozoïdes possèdent les concentrations les plus élevées de l'enzyme carnitine acétyltransférase et que la carnitine en soi est accumulée par les spermatozoïdes durant la maturation dans l'épididyme. En outre, l'épididyme possède la teneur la plus élevée en carnitine (Marquis et Fritz, 1965 ; Frenkel *et al.*, 1974).

Comme la majeure partie de la carnitine présente dans les tissus épидидymaux se trouve dans la tête, elle reflète la fonction sécrétoire régionale de l'épididyme (Bohmer *et al.*, 1978). Par conséquent, il a été postulé que le contenu de l'éjaculat d'un marqueur épидидymale tel que la LC serait réduit de manière significative parmi des hommes souffrant d'une inflammation de l'épididyme (Cooper *et al.*, 1990). Parmi les patients atteints d'épididymite, la concentration de carnitine s'est avérée représenter la moitié de celle trouvée chez les hommes dont la fonction épидидymale était normale (Lewin *et al.*, 1976). De plus, l'épaississement épидидymal, qui peut être de novo ou une séquelle d'une inflammation, était intimement associé à une réduction significative de la carnitine du fluide séminal (Cooper *et al.*, 1988).

Un biomarqueur potentiel important de la fonction testiculaire est la carnitine acétyltransférase active contenue dans les spermatozoïdes. L'activité de cette enzyme est 7 fois supérieure dans les spermatocytes primaires diplotènes que dans la spermatogonie, ce qui indique que la carnitine acétyltransférase peut être utile en tant qu'enzyme marqueur de la différenciation de la cellule germinale dans le testicule (Vernon *et al.*, 1971).

### La carnitine et l'infertilité masculine

La qualité et la fonction des spermatozoïdes s'améliorent grâce à l'absorption de LC et d'ALC administrées en supplément (pour une revue, voir Comhaire et Mahmoud, 2003). Parmi les hommes infertiles, les concentrations de LC et d'ALC dans le plasma séminal varient quelque part respectivement entre 200 et 1300 nmol/ml et entre 60 et 280 nmol/ml. Une corrélation positive a été rapportée entre la LC libre et la quantité de spermatozoïdes ( $r = 0,617$  ;  $P < 0,01$ ), la motilité des spermatozoïdes ( $r = 0,614$  ;  $P < 0,01$ ), et la quantité de spermatozoïdes mobiles /ml ( $r = 0,646$  ;  $P < 0,01$ ) (Menchini-Fabris *et al.*, 1984). Des résultats similaires ont été rapportés dans une étude portant sur 101 hommes infertiles (Matalliotakis *et al.*, 2000), au cours de laquelle une relation nettement positive entre la teneur en LC dans le sperme et la densité des spermatozoïdes ( $r = 0,711$  ;  $P < 0,0001$ ), la motilité des spermatozoïdes ( $r = 0,579$  ;  $P < 0,0001$ ), et la morphologie des spermatozoïdes ( $r = 0,586$  ;  $P < 0,001$ ) a été détectée. Toutefois, il est important de noter que ces études manquaient de concept contrôlé à double insu. En outre, les critères d'inclusion des patients n'étaient pas strictement définis, ce qui a résulté en un mélange de diverses étiologies masculines.

Une association entre la concentration d'ALC et la fécondité masculine peut être suggérée étant donné que l'ALC parmi des hommes infertiles atteints d'oligozoospermie s'est avérée être significativement inférieure par rapport aux hommes féconds du groupe de contrôle (Kohengkul *et al.*, 1977). Une étude dans le cadre de laquelle des hommes normozoospermiques infertiles ont été comparés à un groupe de contrôle fécond a trouvé des concentrations réduites de carnitine libre (295 versus 521  $\mu\text{mol/l}$ ,  $P < 0,001$ ) et de carnitine totale (513 versus 743,  $P < 0,001$ ) parmi les hommes infertiles. On peut également suggérer que l'ALC joue un rôle potentiel dans le diagnostic de cas d'infertilité inexplicée chez des hommes dont les paramètres du sperme sont normaux (Zopfgen *et al.*, 2000).

### Azoospermie

Une autre utilisation potentielle de la LC séminale résiderait dans le diagnostic des causes de l'azoospermie. Il se pourrait que le diagnostic exact soit basé sur le fait que la carnitine présente dans le plasma séminal trouve essentiellement son origine dans l'épididyme et les vésicules séminales. Les hommes atteints d'azoospermie obstructive, dont le niveau d'obstruction est élevé (post-épидидymal), par exemple ceux présentant une agénésie du canal déférent, ont des concentrations de carnitine

extrêmement basses (Menchini-Fabris *et al.*, 1984). D'autre part, les hommes présentant une obstruction en dessous du niveau de l'épididyme (intra-testiculaire ou épидидymo-testiculaire) ont des concentrations normales de carnitine dans le fluide séminal (Saeed *et al.*, 1994).

### Asthénozoospermie

Les résultats suggèrent une relation entre les carnitines et la motilité des spermatozoïdes. Les spermatozoïdes sont immobiles quand ils sont retirés par micropuncture d'une région dans la tête de l'épididyme dans laquelle ils n'ont pas encore été exposés à des concentrations appréciables de carnitine (Hinton *et al.*, 1979). En outre, le fait d'ajouter de la carnitine et de l'ALC aux spermatozoïdes humains *in vitro* accroît leur motilité (Tanphaichitr, 1977).

Bien que les valeurs isolées de LC et d'ALC puissent être supérieures dans des échantillons caractérisés par une asthénozoospermie (Bartellini *et al.*, 1987), le rapport ALC/LC et l'acétylation exprimée en pour cent sont toujours nettement réduits (Kohengkul *et al.*, 1977 ; Golan *et al.*, 1984 ; Bartellini *et al.*, 1987). La différence significative au niveau du rapport ALC/LC ratio et de l'acétylation exprimée en pour cent trouvée dans des échantillons caractérisés par de faibles degrés de motilité pourrait s'expliquer par le fait que le système enzymatique (carnitine transférase) est entravé. Ce système contrôle la réaction carnitine acétyl-carnitine qui entraîne une motilité défailante des spermatozoïdes.

### Effets thérapeutiques de la carnitine

Les rôles thérapeutiques des carnitines sont basés sur des observations multiples rapportées dans la littérature (Casillas, 1973 ; Lewin *et al.*, 1976 ; Johansen et Bohmer, 1979 ; Golan *et al.*, 1984 ; Bartellini *et al.*, 1987 ; Bieber, 1988 ; Jeulin et Lewin, 1996 ; Moore, 1998). Les hommes atteints d'oligoasthénozoospermie présentent des concentrations inférieures de LC (Lewin *et al.*, 1976 ; Menchini-Fabris *et al.*, 1984) et d'ALC (Kohengkul *et al.*, 1977) par rapport aux sujets sains et féconds. Une corrélation significativement positive a été détectée entre les concentrations de LC et la quantité et la motilité des spermatozoïdes (Menchini-Fabris *et al.*, 1984). Si l'on tient compte de ces observations parallèlement avec le rôle bien établi que la LC et l'ALC jouent dans la production d'énergie, la maturation et les propriétés antioxydantes des spermatozoïdes, il en résulte des motifs d'initier un traitement à base de LC et/ou d'ALC dans de nombreux cas d'infertilité masculine.

### Etudes non humaines

Dans une tentative de caractériser l'action protectrice de l'ALC en utilisant un système de tests *in vivo*, le processus de récupération et de maturation de la spermatogénèse a été étudié parmi les souris. Des souris ont été exposées à une irradiation visant à éliminer la spermatogonie. En outre, elles ont reçu de l'ALC à raison de 100 mg/kg, un jour sur deux, pendant 4 semaines. La population de spermatozoïdes parmi les souris qui avaient reçu de l'ALC a démontré une récupération plus rapide tout au long du processus de maturation par rapport aux spermatozoïdes parmi les souris qui n'en avaient pas reçu (Amendola *et al.*, 1989). Dès lors, il apparaît que l'ALC pourrait influencer les stades précoces de spermatogénèse, avec des effets consécutifs favorables sur la réparation de l'ADN et la prolifération de cellules germinales régénérantes (Amendola *et al.*, 1989). Similairement, un raccourcissement du temps de récupération de la spermatogénèse suivant une attaque hyperthermique a été signalé (Amendola *et al.*, 1991), ce qui pourrait avoir une importance clinique parmi les humains étant donné que l'hyperthermie affecte la capacité reproductrice dans des cas de varicocèle, une des causes les plus communes de l'infertilité masculine (Comhaire *et al.*, 1976).

Il se pourrait également que les carnitines aident à protéger des effets dangereux des champs électriques et magnétiques (CEM) auxquels les humains sont fréquemment exposés. Dans une étude, des souris prétraitées à la LC avant d'être soumises de façon répétée à des CEM ont récupéré leur quantité de spermatozoïdes et leur motilité plus rapidement après exposition en comparaison avec le groupe de contrôle non traité (Ramadan *et al.*, 2002).

L'administration d'acide pivalique par l'eau potable diminue la carnitine sérique en augmentant l'excrétion urinaire de pivaloylcarnitine. Par conséquent, l'acide a été utilisé dans une étude afin de diminuer la carnitine épидидymale chez des rats et des hamsters dont la fécondité était prouvée. Bien que l'ajoute de pivalate (20 µmol/l) pendant une période de 5 semaines ait diminué la teneur en carni-

tine dans le fluide épидидymal du rat de 50-75%, ni la fécondité ni la motilité des spermatozoïdes n'en ont été affectées. Par conséquent, la suppression de carnitine ne s'est pas avérée être une méthode efficace de contraception masculine (Cooper et Yeung, 1999).

## Etudes in vitro

### Renforcement de la motilité

Les spermatozoïdes peuvent conserver 50% de leur motilité pendant une période allant jusqu'à 8 jours si ceux-ci sont co-incubés avec des cultures cellulaires épидидymales (Moore, 1998). Toutefois, la capacité des carnitines à induire un effet de renforcement de la motilité in vitro reste controversée. Il se peut que l'acétyl-carnitine et la carnitine exogènes puissent augmenter la motilité du sperme humain éjaculé, mais la carnitine en soi ne réussit pas à en stimuler la motilité parce que son effet promoteur est uniquement atteint par sa conversion en acétyl-carnitine. Cette déduction est dérivée de l'observation selon laquelle, lorsque de l'acétate est ajouté avant la carnitine ou simultanément avec la carnitine, l'effet de stimulation est initié. Les mécanismes exacts de cette stimulation doivent encore être résolus.

L'observation selon laquelle l'acétyl-carnitine ne réussit pas à stimuler la motilité des spermatozoïdes dans des spermatozoïdes lavés et réussit à le faire avec des échantillons de sperme brut suggère qu'ils doivent encore être métabolisés et transportés par un(des) facteur(s) ou conjointement avec un(des) facteur(s) dans le plasma séminal. Par opposition à d'autres composés tels que la kallicréine, qui agit uniquement sur des échantillons de faible motilité, les carnitines favorise la motilité indépendamment du schéma de motilité initial de l'échantillon (Tanphaichitr, 1977).

### Fécondation in vitro

Des techniques telles que la FIV et l'injection intracytoplasmique (ICSI) augmentent les chances de couples infertiles de concevoir. De nombreuses tentatives ont été faites pour investiguer la relation entre les constituants du plasma séminal, y compris les carnitines, et le potentiel de fécondation de spécimens de sperme dans le cadre d'un programme de FIV. Lors d'une récente étude portant sur 24 hommes dans le cadre d'un programme FIV, aucune différence significative n'a été trouvée concernant les concentrations de carnitine entre ceux qui sont arrivés ou non à une grossesse (Lay *et al.*, 2001). Ces résultats sont soutenus par une autre étude qui a été menée parmi un plus grand groupe de patients ( $n = 178$ ) et n'a révélé aucune valeur prévisible pour la carnitine séminale concernant le potentiel de fécondation des spermatozoïdes durant une FIV (Mieusset *et al.*, 1989).

### Cryoconservation

Après décongélation, les dommages cryo-induits se manifestent essentiellement sous forme de perte de motilité. Les causes exactes de cette perte sont inconnues, mais elles sont probablement multifactorielles. Il a été postulé que la diminution de la motilité des spermatozoïdes après une cryoconservation pourrait être associée à une perturbation de la concentration de carnitine dans le sperme. Après cryodécongélation, la teneur en acétyl-carnitine dans les spermatozoïdes s'est avérée significativement réduite, alors que des changements similaires n'ont pas été trouvés sur le plan de la teneur en carnitine dans les spermatozoïdes ou du rapport ALC/LC dans le plasma séminal (Grizard *et al.*, 1992).

De nombreuses expériences ont révélé que la co-incubation de spermatozoïdes avec des cellules épидидymales renforce la motilité des spermatozoïdes et conserve leur viabilité (Akhondi *et al.*, 1997 ; Moore, 1998), ce qui a rationalisé l'utilisation de cellules épидидymales riches en carnitine en tant que cryoprotecteurs. L'ajoute d'un média cellulaire épидидymal a amélioré la motilité post-décongélation des spermatozoïdes en cas d'utilisation durant le processus de cryoconservation (Reyes-Moreno *et al.*, 2000). Toutefois, un rapport contradictoire a démontré que le traitement du sperme à l'ALC n'améliore pas la motilité des spermatozoïdes ou le dommage subi par la membrane après cryoconservation et cryodécongélation (Duru *et al.*, 2000).

## Etudes In vivo

De nombreux essais cliniques ont trouvé qu'une thérapie fondée sur la LC et l'ALC permet d'optimiser les paramètres de motilité des spermatozoïdes parmi des hommes atteints d'asthénospermie ou d'oligoasthénospermie (Costa *et al.*, 1994 ; Vitali *et al.*, 1995 ; Vicari et Calogero, 2001 ; Vicari *et al.*, 2002 ; Lenzi *et al.*, 2003). D'autre part, d'autres études n'ont pas réussi à détecter des augmentations significatives en termes de concentration des spermatozoïdes après un traitement à la carnitine (Moncada *et al.*, 1992 ; Loumbakis *et al.*, 1996). Les doses relativement limitées et la courte durée du traitement employé pourraient être la principale raison pour laquelle des augmentations substantielles n'ont pas été détectées.

Les propriétés antioxydantes des carnitines peuvent être utilisées en tant qu'outil efficace contre des concentrations élevées de DRO chez des patients souffrant d'une inflammation récurrente ou chronique abactérienne du système génital / de la glande accessoire. Cet effet thérapeutique est le mieux décrit dans le travail mené par Vicari *et al.* (Vicari et Calogero, 2001 ; Vicari *et al.*, 2002). Une diminution des concentrations de DRO, associée à une augmentation de la motilité des spermatozoïdes, a été observée parmi des patients infertiles mâles atteints de prostatovésiculopépididymite abactérienne qui avaient reçu de la LC et de l'ALC pendant 3-4 mois (Vicari et Calogero, 2001 ; Vicari *et al.*, 2002). Il a également été remarqué que l'effet thérapeutique de la carnitine pourrait être maximisé dans des cas de leucocytospermie, s'il était précédé d'un traitement de 2 mois à base de médicaments anti-inflammatoires non-stéroïdiens. Bien que significatives, les deux études ont négligé l'importance d'un groupe de contrôle par placebo.

La plupart des études ayant évalué l'efficacité thérapeutique des carnitines manquent de concept contrôlé par placebo, à double insu (Moncada *et al.*, 1992 ; Costa *et al.*, 1994 ; Vitali *et al.*, 1995 ; Loumbakis *et al.*, 1996 ; Vicari et Calogero, 2001 ; Vicari *et al.*, 2002). Dans la section suivante, certaines des études cliniques les plus pertinentes concernant la carnitine sont mises en évidence. Un résumé des principales caractéristiques des patients et des résultats en termes d'efficacité obtenus sur la base des récentes études est présenté au Tableau 1.

## Essais cliniques humains concernant la L-Carnitine (LC)

Vitali *et al.* ont évalué l'efficacité de la LC administrée par voie orale à raison de 3 g/jour pendant 3 mois parmi 47 patients dans le cadre d'un essai clinique prospectif ouvert (Vitali *et al.*, 1995). Les patients inclus dans cette étude étaient jeunes et infertiles. La seule cause d'infertilité résidait dans une asthénospermie idiopathique qui durait depuis 2 ans au moins. A l'issue de la période de traitement, 80% des patients présentaient des niveaux de motilité des spermatozoïdes améliorés équivalents à ceux observés dans un groupe de contrôle composé de 110 donneurs féconds, ce qui dépasse la norme limite inférieure fixée par l'OMS. Les quantités moyennes de spermatozoïdes ont augmenté de 44,6% (de  $88,0 \pm 8,9 \times 10^6/\text{ml}$  à  $159,0 \pm 5,8 \times 10^6/\text{ml}$ ) et le pourcentage moyen de spermatozoïdes mobiles a augmenté de 99,6% (de 26,8 à 53,5%). En outre, le pourcentage moyen de spermatozoïdes présentant une motilité linéaire rapide a augmenté de 54,5% (de  $20,7 \pm 8,7$  à  $32,0 \pm 5,6\%$ ) après traitement. Il est néanmoins important de remarquer que, bien que cette étude soit caractérisée par une sélection précise des patients, elle manquait d'un groupe de contrôle placebo.

Un autre essai clinique, multi-centres, non-randomisé, non-contrôlé, qui portait sur des hommes atteints d'asthénospermie idiopathique, a évalué l'effet d'une thérapie à long terme à raison de 3 g/jour de LC pendant 4 mois sur la motilité des spermatozoïdes (Costa *et al.*, 1994). Les paramètres de base du sperme ont été déterminés en fonction de deux spécimens de sperme pré-étude testés en termes d'homogénéité. Si les échantillons étaient homogènes, les deux valeurs de prétraitement étaient converties en une moyenne afin de déterminer la valeur de base (TO). Quand aucune homogénéité n'avait été trouvée, la plus grande des deux valeurs a été utilisée en guise de valeur TO. Des analyses du sperme et des évaluations par ordinateur de la motilité ont été réalisées 2 mois avant le traitement, au début du traitement (TO), après 2 mois (T2) et après 4 mois (T4) de traitement de même que 2 mois (T6) après la fin du traitement. La quantité totale de spermatozoïdes éjaculés a augmenté de façon significative le 4ème mois ( $P < 0,001$ ). Ce résultat a été attribué à une augmentation parallèle à la fois de la concentration de spermatozoïdes et du volume du fluide séminal. La vitesse moyenne s'est également améliorée de manière significative ( $P < 0,001$ ) à tous les intervalles (T2, T4 et T6), mais les augmentations sur le plan de l'indice de linéarité et de l'amplitude maximale n'ont été significatives qu'à T4 et T6.



Une récente étude menée par Lenzi (Lenzi *et al.*, 2003) portait sur 86 patients infertiles dans un concept contrôlé par placebo, à double insu, destiné à tester l'efficacité de la carnitine. Les patients ont été soumis à une thérapie à raison de 2 g/jour de LC administrée par voie orale ou à un volume équivalent de placebo apparemment identique. Le concept de l'étude consistait en 2 mois de sevrage afin de minimiser les effets de variations spontanées sur le plan des caractéristiques séminales, en 2 mois de thérapie/placebo, 2 nouveaux mois de sevrage afin d'éviter une attribution incorrecte des effets du médicament, 2 nouveaux mois de placebo/thérapie et 2 mois de suivi.

Les deux groupes (patients et contrôles) ne présentaient aucune différence en termes de paramètres des spermatozoïdes prétraitement et aucune variation significative n'a été observée après le traitement en termes de volume du sperme, de vélocité des spermatozoïdes analysée par CASA, d' $\alpha$ -glucosidase séminale, de potentiel de peroxydation des lipides des spermatozoïdes ou de morphologie des spermatozoïdes. La première analyse des différences entre les patients et les contrôles sur le plan du pourcentage de motilité totale et progressive des spermatozoïdes ne s'est pas avérée significative. Néanmoins, après avoir exclu cinq hommes qui présentaient les valeurs de motilité les plus basses (10%) et une diminution spontanée de la motilité des spermatozoïdes durant la première période de sevrage prétraitement, les différences en termes de motilité totale et progressive se sont avérées significatives ( $P = 0,04$  et  $P = 0,05$  respectivement). La concentration de spermatozoïdes ( $P = 0,001$ ) et la linéarité des spermatozoïdes évaluée par CASA ( $P = 0,003$ ) ont augmenté de façon significative durant une thérapie LC après exclusion de ces cinq mêmes patients. L'augmentation sur le plan de la quantité de spermatozoïdes à motilité progressive s'est avérée plus significative parmi les patients qui présentaient une valeur initiale de  $<5 \times 10^6$  de spermatozoïdes à motilité progressive par éjaculat (55 patients ;  $P = 0,03$ ) et parmi ceux qui présentaient une valeur de  $<2 \times 10^6$  de spermatozoïdes à motilité progressive/ml (71 patients ;  $P = 0,02$ ). Il est intéressant de remarquer que dans cette étude, qui offre le concept le plus fiable, il n'existe aucun rapport concernant l'occurrence d'une grossesse spontanée en résultat du traitement (Comhaire et Mahmoud, 2003).

### Essais cliniques humains concernant l'Acétyl-L-carnitine

L'efficacité clinique de l'ALC sur la qualité du sperme a été évaluée parmi des patients atteints d'oligoasthénospermie idiopathique dans le cadre d'un essai ouvert, non contrôlé par placebo (Moncada *et al.*, 1992). Vingt patients chez qui l'on avait diagnostiqué une oligoasthénospermie idiopathique conformément aux critères de l'OMS ont été enrôlés dans cet essai clinique et traités à l'ALC à raison de 4 g/jour pendant 60 jours. Après avoir suivi le traitement pendant 2 mois, on n'a observé aucun effet apparent sur la densité, la motilité totale et la morphologie des spermatozoïdes. Toutefois, une augmentation de 76% sur le plan du pourcentage moyen de spermatozoïdes présentant une motilité progressive rapide a été observée ( $21,7 \pm 3,24\%$  avant traitement versus  $38,2 \pm 4,71\%$  à 2 mois). Après suppression de l'ALC, les paramètres du sperme en sont revenus aux concentrations observées avant traitement. Cette amélioration transitoire est particulièrement intéressante étant donné qu'elle s'est produite après seulement 2 mois de traitement à l'ALC, même si une exposition constante aux carnitines est considérée comme nécessaire pour au moins un cycle spermatogène complet (environ 74 jours) afin de présenter des améliorations concernant la qualité des spermatozoïdes.

**Tableau 1.** Résumé des essais cliniques humains sélectionnés utilisant des carnitines. OAT = oligoasthénospermie ; LC = L-carnitine ; ALC = acétyl-L-carnitine ; PVE = prostaticovésiculoépидидymite ; AINS = médicament anti-inflammatoire non-stéroïde ; DRO = dérivés réactifs de l'oxygène.

| Auteur et concept   | Population d'étude                  | Traitement  | Résultats en termes de quantité de spermatozoïdes | Résultats en termes de motilité des spermatozoïdes  | Autres résultats et commentaires |
|---|-------------------------------------|---|---|---|----------------------------------|
| Lenzi <i>et al.</i> (2003) : Essai croisé, randomisé, contrôlé par placebo et à double insu, 8 mois | 86 hommes infertiles atteints d'OAT | 2 mois de sevrage, 2 mois placebo/LC (2 g), 2 mois de sevrage, 2 mois placebo/ LC (2 g) |   | Quantité totale de spermatozoïdes mobiles : $9 \pm 6,75$ versus $7,4 \pm 5,58^{bc}$ $5,4 \pm$ |                                  |

|  |   |  |   |   |  |
|--|---|--|---|---|--|
|  |   |  |   | 4,82 <sup>bc</sup><br>Motilité progressive : 7,2 ± 6,39 versus 5,8 ± 6,02 <sup>bc</sup> |  |
| Vicari <i>et al.</i> (2002) ; étude prospective ouverte, 6-9 mois                  | 98 hommes infertiles atteints de PVE abac-térienne  | Groupe A : LC + ALC<br>Groupe B: AINS - 4 mois.<br>Groupe C: AINS - 2 mois, suivis par LC + ALC - 2 mois.<br>Groupe D : AINS et LC + ALC conjointement - 4 mois<br>LC : 1 g/12 h.<br>ALC : 500 mg/12 h | Aucune différence dans les quatre groupes en comparaison avec les valeurs prétraitement | Groupe C 32 (18, 40) versus 14 (10, 19) <sup>ab</sup>                                   | Morphologie : aucune différence significative.<br>Viabilité : groupes C et D 44 (32, 60) et 38 (28, 50) versus 24 (19, 38) et 24 (18, 39) <sup>ab</sup> .<br>Quantité de leucocytes : groupes C et D 0,7 (0,4-1,0) et 1 (0,6-1,1) versus 1,7 (1,1-2,0) et 1,7 (1,1-2,1) <sup>ab</sup> .<br>Production de DRO : groupe C 14,7 versus 51,7 <sup>ab</sup> |
| Vicari et Calogero 2001) ; étude prospective ouverte – 3 mois                      | 54 hommes infertiles atteints de PVE abac-térienne, groupe A (n = 34) : aucune leucocytospermie<br>Groupe B (n=20) : leucocytospermie | LC (1g) + ALC (500 mg) / 12 h pendant 3 mois   | Aucune différence en comparaison avec le prétraitement                                  | Motilité progressive 28 (22-35) versus 104 (10-20) <sup>ab</sup>                        | Viabilité : groupes A et B 42(32, 56) et 33 (28, 46) versus 295 (25, 32) et 27.5 (25, 40) <sup>a</sup><br><sup>b</sup> Production de DRO Groupe A 48,8 (26,2- 66,8) versus 61,1 (30,2 – 79,5) <sup>ab</sup>  |
| Vitali <i>et al</i> (1995) ; étude prospective ouverte – 3 mois                    | 47 hommes infertiles atteints d'asthénozoospermie idiopathique  | LC (1 g t.i.d., 3 mois)  | 159 ± 5,8 versus 88,9 ± 8,9 <sup>bc</sup>   | 53,5 ± 7,7 versus 26,8 ± 10,5 <sup>bc</sup>   | 3 patients sur 47 n'ont présenté aucun changement et 7 d'entre eux sur 47 ont vu les paramètres de leur sperme empirer   |
| Costa <i>et al</i> (1994) ; étude prospective ouverte, essai multi-centres, 6 mois | 100 hommes infertiles atteints d'asthénozoospermie idiopathique   | LC (1 g t.i.d., 4 mois)  | 49,4 ± 3,7 à 53,2 ± 3,4 <sup>bc</sup>   | 26,9 ± 1,1 à 36,4 ± 0,9,4   | La morphologie anormale a diminué de façon significative 45,9 ± 0,8 à 42,9 ± 0,8 <sup>bc</sup>   |
| Moncada <i>et al</i> (1992) ; 2 mois   | 20 hommes infertiles atteints d'asthénozoospermie idiopathique  | ALC (1 g t.i.d., 2 mois)   | 21,7 ± 3,24 à 38,2 ± 4,71   |   |  |

a Résultats exprimés en tant que médiane (10ème percentile, 90ème percentile)

b Comparaison par rapport aux valeurs prétraitement dans le même groupe considérées comme significatives (P < 0,05)

c Résultats exprimés en tant que déviation moyenne ± standard

## Conclusion

La recherche a démontré l'importance de la LC et de l'ALC sur le plan du métabolisme des spermatozoïdes et les bénéfices concernant le développement et la maturation des spermatozoïdes. L'ALC et la LC sont hautement concentrées dans l'épididyme. La L-Carnitine optimise la production d'énergie cellulaire des spermatozoïdes en transportant des acides gras à longue chaîne dans les mitochondries pour utilisation dans le métabolisme par  $\beta$ -oxydation et la mise en tampon qui en résulte du rapport acyl-CoA:CoA. La L-Carnitine désactive également les groupes acyles libres excessifs et potentiellement toxiques et les transporte hors des mitochondries. L'acétyl-L-carnitine aide à conserver la stabilité de la membrane cellulaire grâce à son implication dans l'acétylation des phospholipides membranaires. Le rôle de l'ALC n'est pas uniquement confiné à l'épididyme, mais il est critique au niveau testiculaire dans la spermatogénèse et l'ALC est capable de raccourcir le temps de récupération des cellules souches après des dommages.

Une corrélation positive a été signalée entre la concentration totale de carnitine séminale et l'ALC intra-spermatozoale, d'une part, et les rapports LC et la motilité des spermatozoïdes, d'autre part. Des essais cliniques humains ont démontré qu'un traitement à base de LC et d'ALC peut optimiser les paramètres de motilité des spermatozoïdes parmi des hommes atteints d'asthénospermie ou d'oligoasthénospermie. Toutefois, la plupart de ces études manquent d'un concept contrôlé par placebo, à double insu, ce qui a pour effet qu'il est difficile de se fier à leurs conclusions. En outre, indépendamment de la nature prospective d'essais cliniques portant sur la LC et/ou l'ALC et de l'inclusion de contrôles par placebo et d'un concept à double insu, il faudrait qu'un bénéfice clinique mondial réel soit prouvé. Même des améliorations statistiquement significatives concernant les caractéristiques du sperme ne se traduisent pas toujours par un bénéfice clinique ; cela peut uniquement être fait en établissant un objectif clinique pertinent, idéalement une fécondité in vivo (bien que le taux de fécondation par FIV, le développement de l'embryon après le jour 3 ou la diminution des pertes de grossesse précoces peuvent également être considérés comme appropriés), qui doit démontrer une amélioration statistiquement significative après contrôle de facteurs cliniques pertinents, par exemple l'âge des partenaires féminines. En conclusion, des études judicieusement conçues complémentaires s'imposent pour valider l'utilisation de carnitines dans le traitement de patients souffrant d'infertilité masculine, plus particulièrement chez les hommes dont la qualité du sperme laisse à désirer.

## Remerciements

Les auteurs remercient Robin Verdi pour son soutien de secrétariat.

## Références