

Mouvement normal et pathologique du spermatozoïde humain

Le flagelle du spermatozoïde, structure permettant le mouvement, est parcouru sur toute sa longueur par l'axonème composé de tubules longitudinaux reliés entre eux par des bras de dynéine et des liens de nexine. A l'origine du mouvement, il y a le glissement des microtubules axonémaux les uns par rapport aux autres au cours d'un cycle mécano-chimique d'attachement et de détachement successifs des bras de dynéine sur le tubule voisin, glissement transformé en courbure dont la forme et la vitesse de déplacement engendrent la propagation d'une onde. Ce mouvement dépend de la maturation de la cellule. L'augmentation de l'AMPc est responsable de l'initiation du mouvement, alors que le calcium règle la forme et l'amplitude de la courbure. Ces messagers agissent par l'intermédiaire de phénomènes de phosphorylation des protéines de l'axonème. Des anomalies dans ces structures peuvent rendre compte de dyskinésies et de stérilités.

Pierre Jouannet
Catherine Serres

Chez l'homme, comme dans de nombreuses espèces de mammifères, la mobilité des spermatozoïdes est nécessaire à l'expression de leur fonction, la fécondation de l'ovocyte. L'appareil locomoteur intraflagellaire est édifié au cours de la spermiogenèse mais ce n'est qu'au cours de la traversée épидидymaire que les spermatozoïdes vont acquérir leur potentiel de mobilité fonctionnelle. Ce phénomène constitue une partie de la maturation épидидymaire des spermatozoïdes nécessaire pour la fécondation. Dans l'épididyme, les spermatozoïdes sont quiescents, leur mobilité ne s'exprimera qu'après leur dilution dans le plasma séminal, au moment de l'éjaculation. Ensuite, la mobilité propre des spermatozoïdes est déterminante pour la tra-

versée du mucus cervical, la progression à travers les voies génitales féminines et la pénétration des enveloppes périovocytaires avant la fusion avec l'ovocyte. Au cours de ce « voyage », le spermatozoïde rencontre des micro-environnements très variés et subit un certain nombre de modifications qui se manifestent notamment au niveau de son mouvement. A chacune de ces étapes, des dysfonctionnements d'origine interne ou dépendants de facteurs externes peuvent perturber la mobilité des spermatozoïdes et donc être responsables d'infertilité.

Le flagelle, une structure pour le mouvement

Le support morphologique du mouvement est constitué d'une structure

ADRESSE

P. Jouannet : professeur d'histologie-embryologie, université Paris V. C. Serres : maître de conférence des universités, université Paris XI. Laboratoire de biologie de la reproduction, hôpital Cochin-Port-Royal, 123, boulevard de Port-Royal, 75014 Paris, France.

REFERENCES

1. Fawcett W. The mammalian spermatozoon. *Dev Biol* 1975; 44: 394-436.
2. Serres C, Escalier D, David G. Ultrastructural morphometry of the human sperm flagellum with a stereological analysis of the lengths of the dense fibres. *Biol Cell* 1983; 49: 153-62.
3. Satir P, Wais-Steider J, Lebduska S, Nasr A, Avolio J. The mechanochemical cycle of the dynein arm. *Cell Motil* 1981; 1: 303-27.
4. David G, Serres C, Jouannet P. Kinematics of human spermatozoa. *Gamete Res* 1981; 4: 83-95.
5. Phillips D, Olson G. Mammalian sperm motility structure in relation to function. In: Afzelius BA, ed. *Functionnal anatomy of the spermatozoon*. Oxford: Pergamon Press, 1975: 117-26.
6. Yeung CH, Cooper TG, Oberpenning F, Schulze H, Nieschlag E. Changes in movement characteristics of human spermatozoa along the length of the epididymis. *Biol Reprod* 1993; 49: 274-80.
7. Serres C, Feneux D, Jouannet P, David G. Influence of the flagellar wave development and propagation on the human sperm movement in seminal plasma. *Gamete Res* 1984; 9: 183-95.
8. Katz DF, Mills RN, Prichett TR. The movement of human spermatozoa in cervical mucus. *J Reprod Fert* 1978; 53: 259-65.
9. Burkman LJ. Hyperactivated motility of human spermatozoa during *in vitro* capacitation and implications for fertility. In: Gagnon C, ed. *Controls of sperm motility: biological and clinical aspects*. Boca Raton: CRC Press, 1990: 303-29.
10. Katz DF, Yanagimachi R. Movement characteristics of hamster spermatozoa within the oviduct. *Biol Reprod* 1980; 22: 759-64.
11. Yeung CH. Effects of cyclic-AMP on the motility of mature and immature hamster epididymal spermatozoa studied by reactivation of the demembrated cells. *Gamete Res* 1984; 9: 99-114.
12. Jeulin C, Soufir JC. Reversible intracellular ATP changes in intact rat spermatozoa and effects on flagellar sperm movement. *Cell Motil Cytoskel* 1992; 21: 210-22.
13. Giroux-Widemann V, Jouannet P, Pignot-Paintrand I, Feneux D. Effects of pH on the reactivation of human spermatozoa demembrated with triton X-100. *Mol Reprod Dev* 1991; 29: 157-62.
14. Serres C, Feneux D, Berthon B. Decrease of internal free calcium and human sperm movement. *Cell Motil Cytoskel* 1991; 18: 228-40.

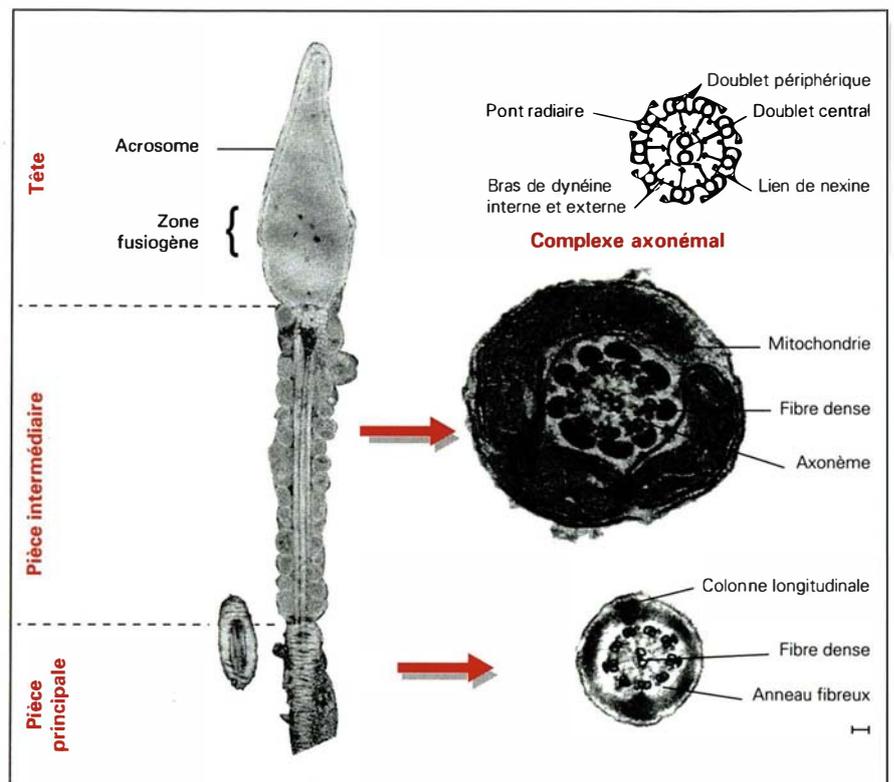


Figure 1. **Coupe de flagelle de spermatozoïde humain en microscopie électronique à transmission: sections longitudinale (gauche) et transversales (droite) au niveau de la pièce intermédiaire et de la pièce principale. La barre représente 0,1 μm.**

de base, l'axonème, qui parcourt le flagelle sur toute sa longueur (figure 1). Les neuf paires de microtubules périphériques et la paire de microtubules centraux sont constituées de tubuline. Sur le microtubule A des doublets périphériques, sont ancrées des expansions latérales appelées bras interne et externe et constituées de dyneïne. Ces bras de dyneïne sont dirigés vers le microtubule B du doublet voisin et régulièrement et précisément espacés tout le long des tubules A. La cohésion des doublets périphériques est assurée par des liens de nexine les reliant entre eux. Enfin, des ponts radiaires partant de ces mêmes doublets périphériques se projettent vers la gaine centrale entourant la paire de tubules centraux [1]. Chaque doublet périphérique est accompagné à l'extérieur d'une fibre dense. Les neuf fibres denses ont des longueurs variables [2]. Cet ensemble est entouré d'un manchon mitochondrial de 5 à 7 μm de long

dans la partie initiale du flagelle puis d'une gaine fibreuse formée d'un empilement de demi-anneaux ancrés sur deux renforts, les colonnes longitudinales, au niveau de la pièce principale du flagelle. La gaine fibreuse disparaît dans la partie terminale. A l'origine du mouvement il y a le glissement des microtubules périphériques axonémaux les uns par rapport aux autres, résultant d'un cycle mécano-chimique d'attachement et de détachement successifs des bras de dyneïne sur le microtubule voisin. L'énergie nécessaire au déplacement des microtubules résulte de l'hydrolyse de l'ATP fournie par les mitochondries et qui se produit grâce aux propriétés ATPasiques de la dyneïne [3]. Le glissement qui se produit dans l'axe longitudinal du flagelle est alors transformé en courbure par un mécanisme incomplètement élucidé qui pourrait faire intervenir les liens de nexine et les ponts radiaires. L'interaction dyneïne-tubuli-

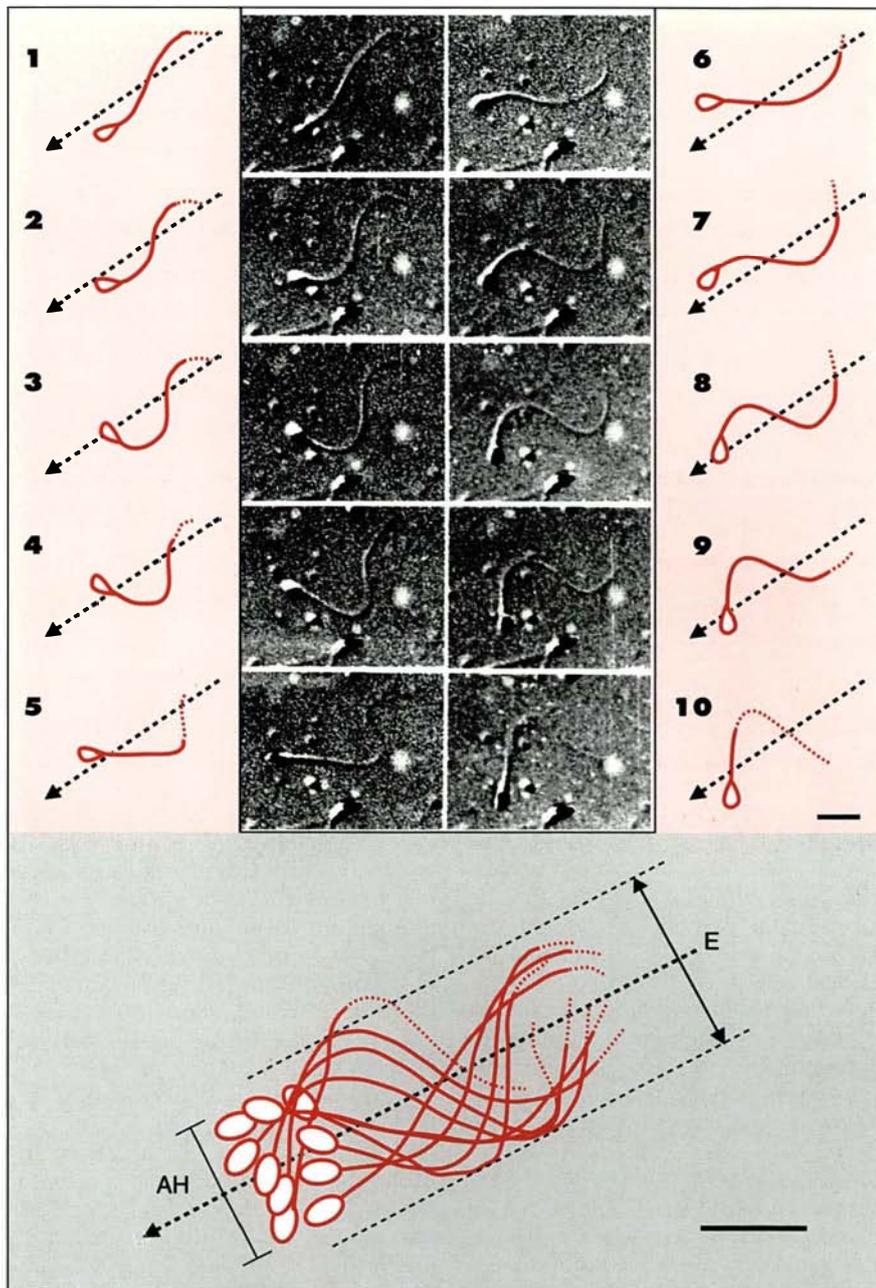


Figure 2. **En haut:** Images successives provenant d'un enregistrement microcinématographique (50 images par seconde) d'un spermatozoïde humain suivi pendant 2 battements flagellaires. **En bas:** Reconstitution de la trajectoire du spermatozoïde. La cellule subit une rotation de 180° entre les deux battements. E = enveloppe du battement flagellaire. AH = amplitude de battement latéral de la tête. La barre représente $10 \mu\text{m}$.

ne se répétant de proche en proche le long du flagelle, la courbure forme une onde qui se déplace vers l'extrémité distale flagellaire tout en augmentant progressivement son amplitude. Arrivée à mi-flagelle, une autre onde d'amplitude plus petite, l'onde inverse, se forme sur le côté opposé. L'onde principale bascule alors dans un plan différent, entraînant l'ensemble de la cellule dans un mouvement rotatoire de 180° . Après la rotation, une nouvelle onde principale débute tandis que les précédentes terminent leur progression dans un plan différent (figure 2). Le mouvement flagellaire est donc tridimensionnel. L'alternance de propagation de courbures et de rotation cellulaire impose à la tête du spermatozoïde un mouvement d'oscillation pseudosinuusoïdale de part et d'autre de son axe de progression [4]. Les structures périaxonémales, quant à elles, ne sont pas indispensables pour la réalisation du mouvement: elles auraient plutôt un rôle passif modulant le degré des courbures flagellaires [5] et favorisant la rotation cellulaire [2].

Plasticité du mouvement spermatique

L'analyse par microcinématographie ou microvidéographie de la cinétique des spermatozoïdes a révélé l'extraordinaire plasticité de leur mouvement. Les spermatozoïdes immatures prélevés au niveau de la tête de l'épididyme ont un mouvement désordonné peu progressif, avec de grandes courbures flagellaires. Ceux prélevés dans la queue de l'épididyme sont en majorité mobiles avec un mouvement progressif et des courbures flagellaires de faible amplitude [6]. Dans le liquide séminal les trajectoires sont progressives, linéaires, plus ou moins rapides et d'amplitudes variables [4]. Au niveau flagellaire cela se traduit par une variabilité des vitesses de propagation de l'onde et des intensités de courbure [7]. Cette diversité de mouvement reflète l'hétérogénéité de la population spermatique éjaculée qui est particulièrement remarquable dans l'espèce humaine et pourrait refléter des différences de maturation épидидymaire. Dans le mucus cervical ovulatoire, les spermatozoïdes ont des trajectoires rectilignes, orientées et homogènes.

REFERENCES

15. Hoskins DD, Vijayaraghavan S. A new theory on the acquisition of sperm motility during epididymal transit. In: Gagnon C, ed. *Controls of sperm motility: biological and clinical aspects*. Boca Raton: CRC Press, 1990: 53-62.
16. Suarez SS, Varosi SM, Dai X. Intracellular calcium increases with hyperactivation in intact, living hamster sperm and oscillates with the flagellar beat cycle. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 4660-4.
17. Meldolesi J, Pozzan T. Pathways of Ca^{2+} influx at the plasma membrane: voltage-, receptor-, and second messenger-operated channels. *Exp Cell Res* 1987; 171: 271-83.
18. Babcock DF, Pfeiffer DR. Independent elevation of cytosolic $[Ca^{2+}]_i$ and pH of mammalian sperm by voltage-dependent and pH-sensitive mechanism. *J Biol Chem* 1987; 262: 15041-7.
19. Breitbart H, Darshan R, Rubinstein S. Evidence for the presence of ATP-dependent calcium pump and ATPase activities in bull sperm head membrane. *Biochem Biophys Res Commun* 1984; 122: 479-84.
20. Serres C, Yang J, Jouannet P. RU486 and calcium fluxes in human spermatozoa. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 204: 1009-15.
21. Blackmore PF. Thapsigargin elevates and potentiates the ability of progesterone to increase intracellular free calcium in human sperm: possible role of perinuclear calcium. *Cell Calcium* 1993; 14: 53-60.
22. Nargeot J, Charnet P. Diversité moléculaire des canaux calciques: du gène à la fonction. *médecine/sciences* 1994; 10: 1293-308.
23. Wistrom CA, Meizel S. Evidence suggesting involvement of a unique human sperm steroid receptor/ Cl^- channel complex in the progesterone-initiated acrosome reaction. *Dev Biol* 1993; 159: 979-90.
24. Blackmore PF. Rapid non-genomic actions of progesterone stimulate Ca^{2+} influx and the acrosome reaction in human sperm. *Cell Signal* 1993; 5: 531-8.
25. Hinsch KD, Hinsch E, Aumuller G, Tychowiecka I, Schultz G, Schill WB. Immunological identification of G protein α - and β -subunits in tail membranes of bovine spermatozoa. *Biol Reprod* 1992; 47: 337-46.
26. Harrison RAP, Mairet B, Miller NGA. Flow cytometric studies of bicarbonate-mediated Ca^{2+} influx in boar sperm populations. *Mol Reprod Dev* 1993; 35: 197-208.
27. Neill JM, Olds-Clarke P. A computer-assisted assay for mouse sperm hyperactivation demonstrates that bicarbonate but not bovine serum albumin is required. *Gamete Res* 1987; 18: 121-40.

Les oscillations latérales de la tête des spermatozoïdes sont pratiquement absentes en raison de la propagation d'ondes flagellaires de très faible amplitude. Les rotations cellulaires sont moins fréquentes [8]. Ce mouvement typique des spermatozoïdes serait le résultat des contraintes externes exercées sur la cellule par la structure microfibrillaire du mucus.

Le mouvement des spermatozoïdes est difficilement observable *in situ* dans la cavité utérine ou les trompes. En revanche, il peut être analysé, *in vitro*, dans des milieux synthétiques de composition comparable aux milieux physiologiques tubaires ou folliculaires capables de «capaciter», c'est-à-dire de rendre aptes à la fécondation, les spermatozoïdes. Dans ces milieux, certains spermatozoïdes modifient leur mouvement: ils perdent leur progressivité, bougent rapidement sur place avec des mouvements de tête larges et orientés successivement dans différentes directions [9]. Ce mouvement qualifié d'«hyperactif» résulte d'une augmentation de l'amplitude de la courbure flagellaire sur un flagelle apparemment plus flexible. Il ne s'exprime que de manière transitoire pour une cellule donnée, entre des phases où le mouvement est progressif. Ce mouvement biphasique a été aussi observé *in situ* dans l'oviducte de hamster [10]. La finalité du mouvement hyperactivé serait de favoriser la rencontre des spermatozoïdes avec l'ovocyte en «balayant» un espace plus important et/ou de faciliter la traversée du cumulus et la pénétration de la zone pellucide entourant l'ovocyte.

Dans l'espace périvitellin, au contact de l'œuf, il semble que la mobilité du spermatozoïde ne soit plus un élément essentiel pour la fusion de celui-ci avec la membrane ovocytaire. L'intégrité de la zone fusiogène constituée de la membrane plasmique post-acrosomique et du cytosquelette adjacent est, en revanche, indispensable pour achever la fécondation.

Régulation du mouvement

Au cours de sa brève existence, le spermatozoïde est capable d'avoir un mouvement très variable d'un mo-

ment à l'autre alors que la structure de son appareil locomoteur reste inchangée. Ainsi, le spermatozoïde capable peut présenter successivement des phases de mouvement hyperactif ou progressif, le passage de l'une à l'autre se faisant en une fraction de seconde. De tels changements nécessitent des mécanismes de régulation aussi subtils que précis. Ces mécanismes régulateurs peuvent s'exercer au niveau des protéines de l'axonème comme au niveau de la membrane plasmique, impliquant l'environnement ionique de l'axonème et des signaux de transduction intracellulaire (figure 3). Le fait de pouvoir démembrer un spermatozoïde et réactiver son mouvement par l'action de l'ATP-Mg offre un outil expérimental intéressant pour étudier la régulation ionique au niveau axonémal.

La concentration d'AMPc contrôle l'initiation du mouvement des cellules immatures épидидymaires. Le rôle de l'AMPc est démontré par le fait que les cellules démembrées immatures de la tête de l'épididyme, outre l'ATP-Mg, ont besoin d'AMPc pour être réactivées alors que les cellules mûres de la queue de l'épididyme n'en ont pas besoin [11]. L'ATP, fournie par les mitochondries, est impliquée dans la régulation du mouvement, non seulement en tant que substrat de l'adénylyl cyclase pour la fourniture d'AMPc, mais aussi en tant que substrat des dynéine-ATPases flagellaires. Ainsi, une relation a été mise en évidence dans les spermatozoïdes intacts de rat entre la fréquence des battements flagellaires ou la vitesse de progression des cellules, et la concentration d'ATP [12]. Chez l'homme aussi, le taux de réactivation et la vitesse de progression de cellules démembrées et réactivées dépendent de la concentration en ATP-Mg du milieu [13].

Le calcium, qui peut inhiber ou stimuler le pourcentage de spermatozoïdes mobiles selon les espèces et leur état de maturation, influence la forme de l'onde flagellaire: l'amplitude des courbures flagellaires de spermatozoïdes humains peut être expérimentalement réduite par la diminution de la concentration du calcium libre intracellulaire ($[Ca^{2+}]_i$) [14]. Cela est à rapprocher de l'observation physiologique de la diminu-

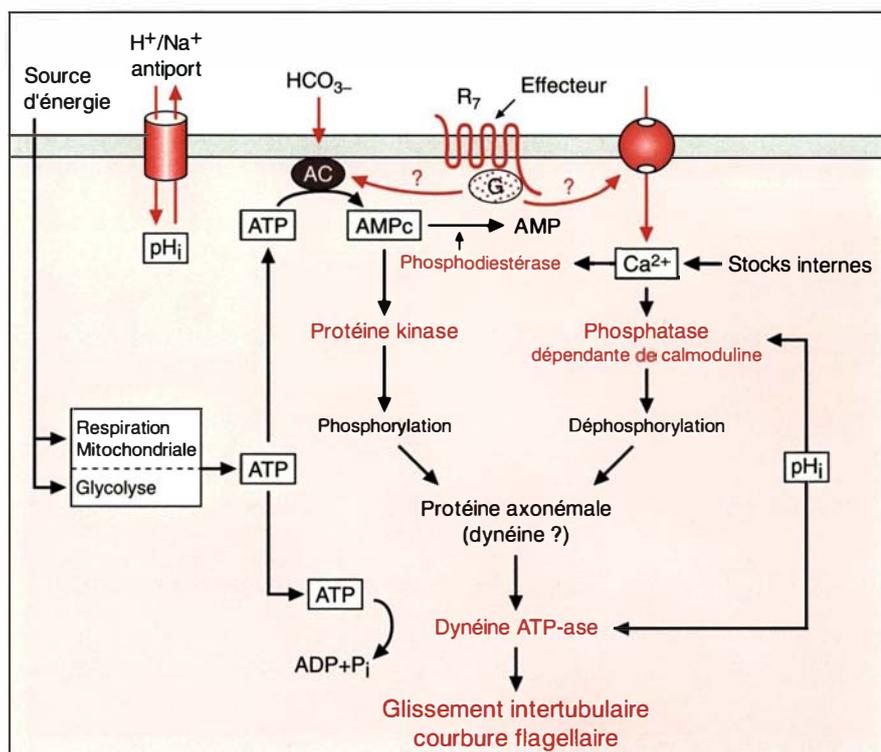


Figure 3. **Schéma résumant les principaux facteurs impliqués dans la régulation du mouvement flagellaire.** Les mouvements ioniques à travers la membrane plasmique permettent les modifications de pH et de concentration de calcium intracellulaires, qui régulent l'activité des systèmes de phosphorylation-déphosphorylation actifs sur les protéines axonémales, engendrant glissement intertubulaire et courbure flagellaire. L'anion bicarbonate HCO_3^- , indispensable à l'hyperactivation du spermatozoïde, pourrait déstabiliser la membrane plasmique et activer l'adénylyl cyclase (AC), et ainsi la synthèse d'AMP cyclique qui, activant la phosphorylation de cibles, pourrait aussi augmenter l'entrée de calcium extracellulaire. Le pH intracellulaire (pHi), modulé par l'entrée de bicarbonate et par l'antiporteur sodium/proton, serait également un important régulateur du mouvement des spermatozoïdes, agissant sur le calcium intracellulaire et la synthèse d'AMPc. Des récepteurs couplés aux protéines G (R_7) existent au niveau des spermatozoïdes, par exemple de type GABA et récepteurs olfactifs. Ils pourraient être couplés aux canaux calciques et à l'adénylyl cyclase.

tion de l'amplitude de l'onde flagellaire lors de la mise en place du mouvement progressif dans l'épididyme, associée à une diminution de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ des spermatozoïdes [15]. A l'inverse, il a été montré que $[\text{Ca}^{2+}]_i$ était plus élevée dans les spermatozoïdes hyperactivés de hamster que dans les cellules non hyperactivées [16], suggérant une relation entre la forte concentration de calcium intracellulaire et la grande amplitude de la courbure flagellaire caractéristique de l'hyperactivation. Les remaniements membranaires se produisant au cours de la capacitation des sper-

matozoïdes s'accompagnent d'une augmentation de la perméabilité membranaire au calcium. Il en résulte une élévation de la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ en même temps qu'apparaît l'hyperactivation. Par ailleurs, des oscillations calciques ont été détectées dans le flagelle des cellules hyperactivées dont la fréquence est identique à celle des battements flagellaires [16].

Les mécanismes qui contrôlent la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ des spermatozoïdes ne sont pas complètement élucidés. Comme dans les autres types cellulaires, elle résulte d'un équilibre entre le flux calcique entrant par des canaux

membranaires, le stockage dans des organelles intracytoplasmiques et le flux sortant par une Ca^{2+} ATPase et/ou un échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ [17]. Des canaux calciques dépendants du voltage ont été caractérisés au niveau de la membrane plasmique de spermatozoïdes de bœuf [18] et une activité Ca^{2+} ATPasique a été mise en évidence dans les spermatozoïdes de bœufs et de bovins [19]. Malgré l'absence de réticulum endoplasmique granulaire, des réserves de calcium interne existent dans le spermatozoïde [20], où le noyau ou l'espace périnucléaire ainsi que les mitochondries pourraient être des lieux de stockage du calcium [21]. On sait peu de choses sur la nature des canaux calciques présents dans la membrane plasmique du spermatozoïde, eu égard à la diversité des canaux calciques des cellules excitables dont la régulation met en jeu des phosphorylations et des protéines G (voir [22] pour revue). Un récepteur de type GABA a bien été mis en évidence [23], mais il ne serait pas impliqué dans la réponse calcique ; il semble contribuer, en aval, à la réalisation de la réaction acrosomique [24]. Le couplage d'un récepteur à une protéine G pour régler l'activité des canaux calciques n'est pas une hypothèse à écarter [18] dans la mesure où des protéines de type G ont été mises en évidence dans le spermatozoïde [25]. Des données expérimentales montrent, en outre, que l'entrée de calcium est stimulée par le bicarbonate [26], un anion dont la présence est indispensable à l'apparition de l'hyperactivation [27]. Il agirait en déstabilisant la membrane plasmique [26] ou en stimulant l'adénylyl cyclase [28] ; dans cette hypothèse, l'augmentation d'AMPc dans la cellule activant à son tour une protéine kinase, la phosphorylation de la cible déclencherait l'ouverture de canaux calciques. Comme le flux entrant de bicarbonate dans la cellule est susceptible de modifier le pH intracellulaire (pHi) du spermatozoïde, une régulation de l'entrée de calcium par le pHi a aussi été évoquée [29].

Il a été montré, enfin, que le flux entrant de calcium pouvait être accéléré par la progestérone contenue dans le liquide folliculaire ; elle augmenterait ainsi le nombre de spermato-

REFERENCES

28. Okamura N, Tajima Y, Soejima A, Masuda H, Sujita Y. Sodium bicarbonate in seminal plasma stimulates the motility of mammalian spermatozoa through direct activation of adenylate cyclase. *J Biol Chem* 1985; 260: 9699-705.
29. Ruknudin A, Silver IA. Ca^{2+} uptake during capacitation of mouse spermatozoa and the effect of an anion transport inhibitor on Ca^{2+} uptake. *Mol Reprod Dev* 1990; 26: 63-8.
30. Gatti JL, Chevrier C, Paquignon M, Dacheux JL. External ionic conditions, internal pH and motility of ram and boar spermatozoa. *J Reprod Fertil* 1993; 98: 439-49.
31. Babcock DF, Rufo GA, Lardy HA. Potassium-dependent increases in cytosolic pH stimulate metabolism and motility of mammalian sperm. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983; 80: 1327-31.
32. Parrish JJ, Vredenburg WL, Lavin CA. Increases in bovine sperm intracellular calcium (Ca_i) and pH (pH_i) during capacitation. *Biol Reprod* 1993; 48 (suppl 1): 106.
33. Yang J, Serres C, Philibert D, Robel P, Baulieu EE, Jouannet P. Progesterone and RU486: opposing effects on human sperm. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 529-53.
34. Shimizu Y, Nord EP, Bronson RA. Progesterone-evoked increases in sperm $[Ca^{2+}]_i$ correlate with the egg penetrating ability of sperm from fertile but not infertile men. *Fertil Steril* 1993; 60: 526-32.
35. Foresta C, Rossato M, Di Virgilio F. Ion fluxes through the progesterone-activated channel of the sperm plasma membrane. *Biochem J* 1993; 294: 279-83.
36. Tesarik J, Mendoza C, Moos J, Carreras A. Selective expression of a progesterone receptor on the human sperm surface. *Fertil Steril* 1992; 58: 784-92.
37. Tash JS. The role of cAMP, calcium and protein phosphorylation in sperm motility. In: Gagnon C, ed. *Controls of sperm motility: biological and clinical aspects*. Boca Raton: CRC Press, 1990: 229-40.
38. Lindemann CB, Kanous KS. Regulation of mammalian sperm motility. *Arch Androl* 1989; 23: 1-22.
39. Ishijima S, Ohio S, Mohri H. Flagellar movement of human spermatozoa. *Gamele Res* 1986; 13: 185.
40. Eliasson R, Mossberg-Camner P, Afzelius BA. The immotile cilia syndrome. *N Engl J Med* 1977; 297: 1.
41. Escalier D, David G. Pathology of the cytoskeleton of the human sperm flagellum: axonemal and periaxonemal anomalies. *Biol Cell* 1984; 50: 37-52.
42. Jouannet P, Escalier D, Serres C, David G. Motility of human sperm without outer dynein arms. *J Submicrosc Cytol* 1983; 15: 67-71.
43. Gibbons BH, Gibbons IR. The effect of partial extraction of dynein arms on the movement of reactivated sea urchin sperm. *J Cell Sci* 1973; 13: 337-57.
44. Wolf JP, Feneux D, Escalier D, Rodrigues D, Frydman R, Jouannet P. Pregnancies after subzonal insemination with spermatozoa without outer dynein arms. *J Reprod Fertil* 1993; 97: 487-92.
45. Serres C, Feneux D, Jouannet P. Abnormal distribution of the periaxonemal structures in a human sperm flagellar dyskinesia. *Cell Motil Cytoskel* 1986; 6: 68-76.
46. Feneux D, Serres C, Jouannet P. Sliding spermatozoa: a dyskinesia responsible for human infertility? *Fertil Steril* 1985; 44: 508-11.
47. Gagnon C, Sherins RJ, Phillips DM, Bardin CW. Deficiency of carboxymethylase in immotile spermatozoa of infertile men. *N Engl J Med* 1982; 306: 821.
48. Tournaye H, Wieme P, Janssens R, Verheyen G, Devroey P, Van Steirteghem A. Incubation of spermatozoa from asthenozoospermic semen samples with pentoxifylline and 2-deoxyadenosine: variability in hyperactivation and acrosome reaction rates. *Hum Reprod* 1994; 9: 2038-43.
49. Romac P, Zanic-Grubisic T, Culic O, Cvitkovic P, Fogel M. Sperm motility and kinetics of dynein ATPase in asthenozoospermic samples after stimulation with adenosine and its analogues. *Hum Reprod* 1994; 9: 1474-8.
50. Shen M, Linden J, Chiang P, Chen S, Wu S. Adenosine stimulates human sperm motility via A_2 receptors. *J Pharm Pharmacol* 1993; 45: 650-3.
51. Lanzafame F, Chapman MG, Guglielmino A, Gearon CM, Forman RG. Pharmacological stimulation of sperm motility. *Hum Reprod* 1994; 9: 192-9.
52. Kovalski NN, de Lamirande E, Gagnon C. Reactive oxygen species generated by human neutrophils inhibit sperm motility: protective effect of seminal plasma and scavenger. *Fertil Steril* 1992; 58: 809-16.
53. de Lamirande E, Gagnon C. Reactive oxygen species and human spermatozoa. II Depletion of adenosine triphosphate plays an important role in the inhibition of sperm motility. *J Androl* 1992; 13: 379-86.
54. Zouari R, De Almeida M, Rodrigues D, Jouannet P. Localization of antibodies on spermatozoa and sperm movement characteristics are good predictors of *in vitro* fertilization success in case of male autoimmune infertility. *Fertil Steril* 1993; 59: 602-16.
55. Wolf JP, De Almeida M, Ducot B, Rodrigues D, Jouannet P. High levels of sperm associated antibodies impair human sperm-oolemma interaction after subzonal insemination. *Fertil Steril* 1995; 63: 584-90.
- zoïdes humains hyperactivés [33]. Il est intéressant de noter que l'antiprogestine RU486 a un effet inverse, inhibant le flux entrant de calcium dans le spermatozoïde et empêchant son hyperactivation [20]. Le flux entrant calcique stimulé par la progestérone n'emprunterait pas les canaux dépendants du voltage [34] bien qu'une dépolarisation membranaire accompagne l'action de la progestérone [35]. Des «récepteurs» de la progestérone, présents à la surface des spermatozoïdes humains [36], pourraient relayer son effet. Un autre facteur de régulation du mouvement est le pH intracellulaire (pH_i): une augmentation du pH_i est associée à l'activation de la mobilité de spermatozoïdes épидидymaires de verrat alors que la baisse du pH_i serait responsable de la quiescence des spermatozoïdes mûrs épидидymaires de certaines espèces de mammifères [30, 31]. Lors de l'établissement du mouvement progressif des spermatozoïdes épидидymaires, une augmentation du pH_i serait à l'origine de la diminution de $[Ca^{2+}]_i$; celle-ci stimulerait alors l'augmentation de l'AMPC amorçant le mouvement [15]. Bien que le pH_i des spermatozoïdes s'élève au cours de la capacitation [32], parallèlement à l'élévation du calcium, aucune relation entre l'hyperactivation et cette augmentation du pH_i n'a encore été établie. Les échangeurs Ca^{2+}/H^+ ou Na^+/H^+ et Na^+/Ca^{2+} pourraient directement ou indirectement relayer les modifications de calcium et de pH observées lors de la capacitation. Plus directement au niveau axonémal, le pH module l'effet de l'AMPC et de l'ATP-Mg sur la réactivation des spermatozoïdes, la fréquence des battements flagellaires et les vitesses de progression des cellules démembrées et réactivées [12]. Ainsi le mouvement est réglé de manière complexe par le calcium, le pH, l'AMPC et l'ATP qui interagissent entre eux et interviennent parallèlement ou en cascade. Par quels mécanismes ces facteurs de régulation exercent-ils leur action sur le mouvement flagellaire? Les travaux de ces dix dernières années suggèrent que le relais se ferait par la phosphorylation de protéines flagellaires (pour revue, voir [37]). L'AMPC stimulerait une activité pro-

téine kinase alors que le calcium en se liant à la calmoduline stimulerait une activité phosphatase. La première protéine phosphorylée identifiée a été la sous-unité régulatrice d'une protéine kinase type II, mais d'autres cibles de ces enzymes sont recherchées, avec pour candidats certaines sous-unités des bras externes de dynéine; leur état de phosphorylation pourrait influencer l'activité ATPasique et donc le glissement des microtubules flagellaires. Le pHi, modulerait l'effet de l'AMPC et du calcium en affectant directement les activités enzymatiques impliquées comme l'activité phosphatase [38].

Enfin, le mouvement des cellules peut aussi être influencé par des facteurs extérieurs à la cellule. Dans certains cas, il s'agit de contraintes mécaniques liées à l'«architecture» de l'environnement (réseau de mucoprotéines du mucus cervical). On sait aussi que la température ou la viscosité du milieu peuvent agir sur l'amplitude et la fréquence des ondes flagellaires [39].

Les akinésies et dyskinesies flagellaires

Les anomalies du mouvement spermatique peuvent être responsables de stérilité. Dans certains cas, aucun spermatozoïde n'est mobile. Quelquefois les spermatozoïdes sont mobiles mais leur mouvement est inefficace, entraînant un déficit fonction-

nel de la cellule et une stérilité quand tous les spermatozoïdes sont atteints. Ces dyskinesies flagellaires sont généralement révélées par les résultats des tests de pénétration dans la glaire cervicale *in vivo* et/ou *in vitro* couramment pratiqués dans les bilans d'infertilité. Les facteurs responsables de cette situation peuvent être de trois ordres : soit il existe des lésions structurales de l'appareil locomoteur, soit le système de régulation intracellulaire du mouvement est perturbé, soit un facteur exogène interfère avec le battement flagellaire. Les observations s'accroissent en pathologie humaine mais rares sont les altérations bien documentées. Seules plusieurs anomalies ultrastructurales ont été clairement identifiées.

L'akinésie flagellaire peut être due à l'absence des deux bras de dynéine, comme cela a été décrit chez des hommes ayant un syndrome de Kartagener [40], mais d'autres défauts des structures axonémales peuvent être responsables de l'absence de mouvement [41]. Chez d'autres hommes infertiles, les spermatozoïdes sont mobiles mais leur vitesse de progression et la fréquence des battements flagellaires sont diminuées (figure 4), les doublets externes de l'axonème flagellaire étant dépourvus de bras externes de dynéine [42]. Cette affection ressemble au modèle expérimental réalisé par Gibbons qui,

après avoir extrait les bras de dynéine externe de spermatozoïdes d'oursin incubés dans un milieu de force ionique élevée, constatait une diminution de moitié de la fréquence des battements flagellaires [43]. Des spermatozoïdes sans dynéine au niveau des doublets externes ne traversent pas normalement le mucus cervical ni la zone pellucide. En revanche, ils fusionnent bien avec des ovocytes dépellucidés de hamster ou avec des ovocytes humains quand ils sont placés sous la zone pellucide. L'utilisation de cette dernière technique de fécondation *in vitro* a permis à des hommes, stériles du fait de cette affection, de devenir pères [44].

Une autre dyskinesie concerne des anomalies des structures périaxonémales (fibres denses et colonnes longitudinales) qui sont mal disposées et/ou en nombre anormal [45]. Ces anomalies sont associées à une réduction importante de l'amplitude des ondes flagellaires et du mouvement de la tête. Les rotations cellulaires sont rares et les spermatozoïdes semblent glisser dans le milieu [46]. Ces spermatozoïdes sont aussi incapables de migrer dans la glaire cervicale et de féconder *in vitro*.

En l'absence d'anomalies ultrastructurales, l'akinésie pourrait être due à un défaut du système de régulation. Ainsi, a été observée chez certains patients infertiles dont les spermatozoïdes étaient immobiles une diminution très importante de l'activité de la protéine carboxyméthylase [47]. La signification physiopathologique de ce résultat est méconnue car le rôle d'un système de méthylation-déméthylation dans le mouvement du spermatozoïde n'a pu être encore clairement démontré.

De nombreux essais d'amélioration du pouvoir fécondant des spermatozoïdes par des «traitements *in vitro*» ont été proposés. La plupart cherchent à augmenter le taux d'AMPC intracellulaire, soit en utilisant des inhibiteurs de la phosphodiesterase comme la caféine, la théophylline ou la pentoxifylline [48], soit en utilisant la 2-désoxyadénosine [49] qui agirait sur la production d'AMPC par l'adénylyl cyclase membranaire *via* des récepteurs A₂ mis en évidence dans le spermatozoïde humain [50]. Si les améliorations de la mobilité des spermatozoïdes observées dans la

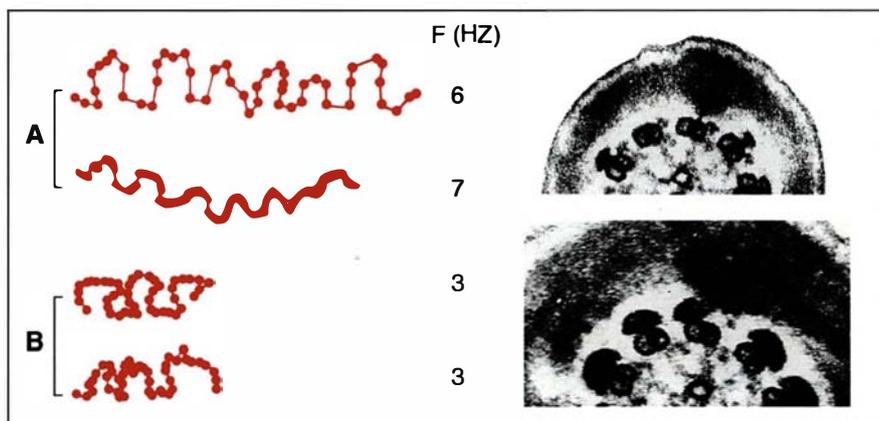


Figure 4. Trajectoires enregistrées pendant deux secondes et structure flagellaire de spermatozoïdes normaux (A) et dépourvus de bras externes de dynéine (B). La progression et la fréquence des battements flagellaires (F) des spermatozoïdes sans bras externe de dynéine sont diminuées de moitié.

plupart des études confirment indirectement le rôle de l'AMPc dans la régulation du mouvement, il est important de souligner qu'aucun de ces traitements ne semble avoir amélioré le pouvoir fécondant des spermatozoïdes, que ce soit *in vivo* ou *in vitro* [51].

Parmi les facteurs externes pouvant altérer la mobilité des spermatozoïdes, il est classique d'évoquer l'infection des voies génitales. Ce ne sont pas tant les germes eux-mêmes qui sont en cause que les polynucléaires qui, dans certaines conditions d'activation, produisent des radicaux libres qui vont altérer la membrane des spermatozoïdes et diminuer leur mobilité [52]. Ce phénomène peut s'accompagner d'une chute de la concentration intracellulaire d'ATP [53].

Il a été observé, enfin, qu'en cas d'auto-immunisation antispermatozoïde, les chances de fécondation *in vitro* dépendent moins du taux de spermatozoïdes recouverts d'IgG et/ou d'IgA que du mouvement des gamètes et, en particulier, de l'amplitude du débattement latéral de la tête [54]. En revanche, quand les spermatozoïdes recouverts d'anticorps sont mis sous la zone pellucide, la fécondation des ovocytes ne semble plus dépendre des caractéristiques du mouvement [55].

Une meilleure connaissance du mouvement normal et pathologique du spermatozoïde humain contribuera sûrement dans l'avenir à mieux diagnostiquer de nombreuses causes de stérilité masculine et à trouver les solutions thérapeutiques adaptées sans forcément recourir à des méthodes trop invasives comme l'injection mécanique de spermatozoïdes dans le cytoplasme ovocytaire pour aider les couples infertiles à devenir parents ■

Summary

Normal and pathological movement of human sperm

The tail of human spermatozoa is made of a complex microtubular structure, the axoneme, surrounded by nine coarse cytoskeletal fibers and two longitudinal columns bridged by numerous transverse ribs. Dynein-tubulin interaction results in sliding between the outer doublets of the axoneme. The sliding is transformed in a bent whose shape and propagation velocity along the flagellum govern the movement of the cell. The pattern of movement is drastically influenced by the maturation stage of the spermatozoa. Many factors can influence the regulation of the human sperm movement. Cyclic AMP is the second messenger mainly involved in the initiation of motility while calcium modulates the shape of the bend. These messengers, in a complex equilibrium with internal pH and ATP, could control dynein-tubulin interaction through phosphorylation and dephosphorylation of axonemal proteins. Defects of flagellar structures and functions of human spermatozoa may be responsible for akinesia and sterility. In some cases the spermatozoa are motile but the migration through cervical mucus and zona pellucida is impossible because of a flagellar dyskinesia related to a flagellar defect as, lack of outer dynein arms or modification of the periaxonemal structures. Other dyskinesia may be linked to defects of movement regulation or to deleterious exogenous factors. Until now no treatment acting on second messenger levels in human spermatozoa have been proved to be efficient to treat male infertility.

TIRES A PART

P. Jouannet.