2905

MATURATION EPIDIDYMAIRE DES SPERMATOZOIDES, INFLUENCE SUR LA QUALITE DES GAMETES

*J.L. DACHEUX (1) *, M. PAQUIGNON (2)*

(1) CNRS-Laboratoire de Physiologie Comparée, Faculté des Sciences, 37200 TOURS
(2) ITP-MNE 149, Rue de Bercy, 75595 PARIS Cedex 12

L'élaboration de spermatozoides à partir d'une cellule germinale non différenciée est un long processus cellulaire qui se déroule principalement dans le testicule. Chez le Verrat, la durée de la spermatogénèse est d'environ 40 à 45 jours. Ces différenciations cellulaires aboutissent à la formation de cellules haploides hautement spécialisées constituées d'un appareil nucléaire trés condensé coiffé d'un acrosome (tête), d'un système énergétique trés développé (piéce intermédiaire) et d'un cytosquelette hautement specialisé (flagelle) destiné à déplacer cette cellule. L'enchainement des modifications cellulaires est controlé d'une part par l'expression gènomique de ces cellules germinales et d'autre part par certaines cellules somatiques. En effet, la production des signaux nucléaires (ARN messagers), à l'origine de ces modifications cellulaires, est progressivement arrêtée durant la condensation du noyau des spermatides allongées, alors que de nombreuses autres transformations sont encore nécessaires pour aboutir à la formation d'un spermatozoide fécondant. Ces modifications sont aussi contrôlées par les cellules environnant les gamètes : les cellules de Sertoli dans le testicule et les cellules de l'épithelium de l'épididyme pour la phase de différenciation post-gonadique.

La formation des spermatozoides est pratiquement achevée dans le testicule, mais le pouvoir fécondant des gamètes n'apparait qu'après leur transit dans l'épididyme. Dans cet organe, les gamètes continuent à se transformer. Ces modifications qui constituent ''la maturation épididymaire'', ne peuvent s'effectuer que dans un environnement très spécifique créé par l'épithélium du tubule. Le rôle de l'épididyme est donc primordial dans la qualité des spermatozoides éjaculés.

CONSTITUTION DE L'EPIDIDYME ET PRINCIPALES FONCTIONS

I — MORPHOLOGIE DE L'ÉPIDIDYME DE VERRAT

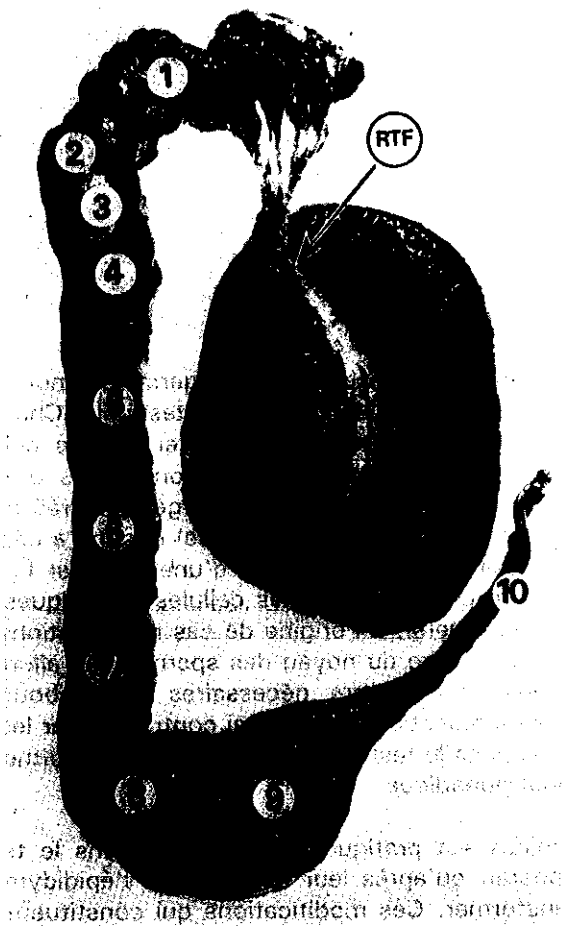
L'épididyme de verrat est un organe mesurant 15 à 20 cm, plaqué contre le testicule et formé par l'enroulement très serré d'un seul tube de 50 à 60 mètres de long. D'un point de vue anatomique, l'épididyme est très souvent subdivisé en trois grandes régions : la région antérieure ou tête, le région médiane ou corps et la région postérieure ou queue (figure 1). Du point de vue physiologique, la zonation de cet organe est plus complexe : le tube épididymaire est constitué de multiples régions spécialisées dans des activités très précises et qui n'ont aucun repère anatomique distinct.

* Détaché au Laboratoire de Physiologie de la Reproduction - INRA - Nouzilly - 37380 Monnaie.

Des techniques de cathétérisation et de microperfusions in vivo et in vitro ont permis de recueillir et d'étudier les spermatozoides et le liquide épididymaire de différentes régions de l'épididyme (figure 1).

FIGURE 1

PHOTOGRAPHIE D'UN ÉPIDIDYME ET D'UN TESTICULE DE VERRAT LARGE WHITE
(où figurent les dix zones de prélèvements des spermatozoïdes épididymaires)



RTF : « Rete Testis Fluid », région du testicule où sont prélevés *in vivo* les spermatozoïdes et le fluide testiculaire. 1-4 : région antérieure de l'épidiyme, 5-7 : région médiane, 8-10 : région caudale de l'organe.

II- PRINCIPALES FONCTIONS DE L'ÉPIDIDYME

1- Transport des gamètes dans l'épididyme :

La première fonction du tube épididymaire est de transporter les spermatozoides du testicule vers le système éjaculateur de l'animal. Les spermatozoides testiculaires sont entrainés en dehors des tubes séminiféres par un liquide produit en continu par les cellules de sertoli (fluide testiculaire). Le contenu de chaque tube seminifère aboutit dans la partie centrale du testicule (rete testis). La connection de cette région avec le tube formant l'épididyme s'établit grâce à une dizaine de tubules (canaux éfférents). Ces canaux se rassemblent progressivement dans la région antérieure de l'épididyme (figure 1). Chez le verrat, la durée du transit des gamètes dans cet organe est d'environ deux semaines. La vitesse de passage des spermatozoides varie selon les régions de l'organe

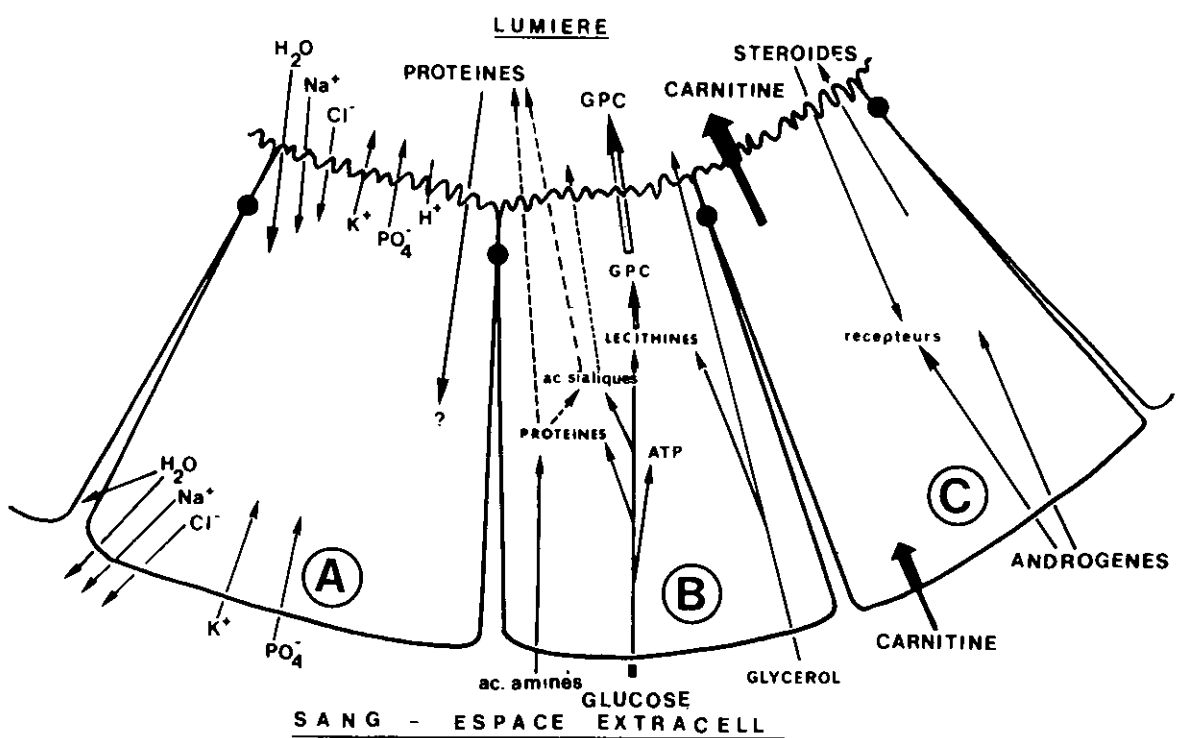
(SINGH 1962). Dans les parties antérieures et médianes, la durée de transit est de 6 à 8 jours quelle que soit la fréquence d'éjaculation de l'animal. Par contre le temps de séjour des spermatozoides dans la partie caudale de l'épididyme (5 à 8 jours) est influencé par la fréquence des collectes (NOVAK, PAQUIGNON, SIGNORET, 1984). Cette fonction de transport de l'épididyme est assurée par la contraction périodique de la gaine des fibres musculaires lisses entourant les tubules ; dans les régions postérieures, la contraction de cette gaine musculaire est en partie controlée par le systéme nerveux sympathique.

2- Fonction de réabsorption :

L'épithélium épididymaire réabsorbe des ions, des protéines et de l'eau. La fonction de réabsorption hydrique est très active dans la région antérieure de l'organe. Chez le verrat, le débit moyen de liquide sortant du testicule est d'environ 2,5-3 ml/h ; la concentration en spermatozoides dans ce fluide y est de l'ordre de 100 x 10^6 spz/ml (DACHEUX, O'SHEA, PAQUIGNON, 1979). Dès les premières zones épididymaires, la concentration en gamètes s'accroit rapidement pour atteindre des valeurs de 5 à 8 X 10^9 spz/ml. Cette augmentation de la concentration en spermatozoides est la conséquence d'une très forte réabsorption de l'eau contenue dans la lumière du tube épidiydmaire. Pratiquement 99% du liquide testiculaire collecté dans l'épididyme est réabsorbé. Ce mouvement hydrique est accompagné par une réabsorption ionique interessant principalement les ions sodium (figure 2). En ce qui concerne la composition protéique du milieu épididymaire, la majorité des protéines présentes dans le liquide testiculaire disparait dans les premières régions épididymaires. Elles sont alors remplacées par de nouveaux composés sécretés par les cellules de l'épithélium.

FIGURE 2

REPRÉSENTATION SCHÉMATIQUE DES TROIS PRINCIPALES FONCTIONS DE L'ÉPITHÉLIUM ÉPIDIDYMAIRE



A : Fonction de réabsorption, B : Fonction de sécrétion, C : Fonction de concentration.

3- Fonctions de sécrétions :

Les cellules épididymaires produisent et sécrètent dans la lumière du tubule plusieurs composés organiques tels que la glycérylphosphorylcholine (GPC) et de nombreuse protéines spécifiques

(DACHEUX, PAQUIGNON, LANNEAU, 1984). Le rôle de ces substances sur le spermatozoides est incertain, mais leur présence dans le milieu épididymaire coincide très souvent avec l'apparition de modifications (morphologiques ou physiologiques) des gamètes. L'épithélium sécrète plusieurs dizaines de protéines spécifiques. Ces composés protéiques sécretés par l'épididyme sont actuellement très étudiés car plusieurs d'entre eux sont impliqués dans les modifications membranaires des gamètes.

4- Fonctions de concentration :

La fonction de concentration de substances sanguines dans la lumière du tube par les cellules épididymaires est particulièrement illustrée par les concentrations en carnitine et acétylcarnitine dans le fluide épididymaire (figure 2). La carnitine produite par le foie, véhiculée par le sang, est très activement réabsorbée par l'épithélium épididymaire, concentrée dans la lumière du tube épididymaire pour atteindre des valeurs les plus élévées de l'organisme. Le rôle de telles concentrations en carnitine dans le fluide est inconnu mais ce composé pénètre dans les spermatozoides et participe aux processus énergétiques de la cellule. L'augmentation intracellulaire de la carnitine et de l'acétylcarnitine dans le spermatozoide est associée à une augmentation de la motilité des gamètes (JEULIN *et al.*, 1987).

5- Conclusion :

Ces différentes fonctions de l'épithélium épididymaire contribuent à modifier la composition du milieu véhiculant les spermatozoides. Cet épithelium constitue également une véritable barrière entre le mileu sanguin et le contenu de la lumière du tube. Cette barrière permet aux spermatozoides d'être environnés par un milieu de composition biochimique très spécifique, indispensable à leur maturation et leur survie.

MODIFICATIONS DES SPERMATOZOIDES LORS DU TRANSIT DANS L'EPIDIDYME

La maturation des spermatozoides dans l'épididyme se caractérise par une succession de modifications morphologiques et physiologiques qui apparaissent sur les gamètes dans des régions épididymaires très précises

I- MODIFICATIONS MORPHOLOGIQUES

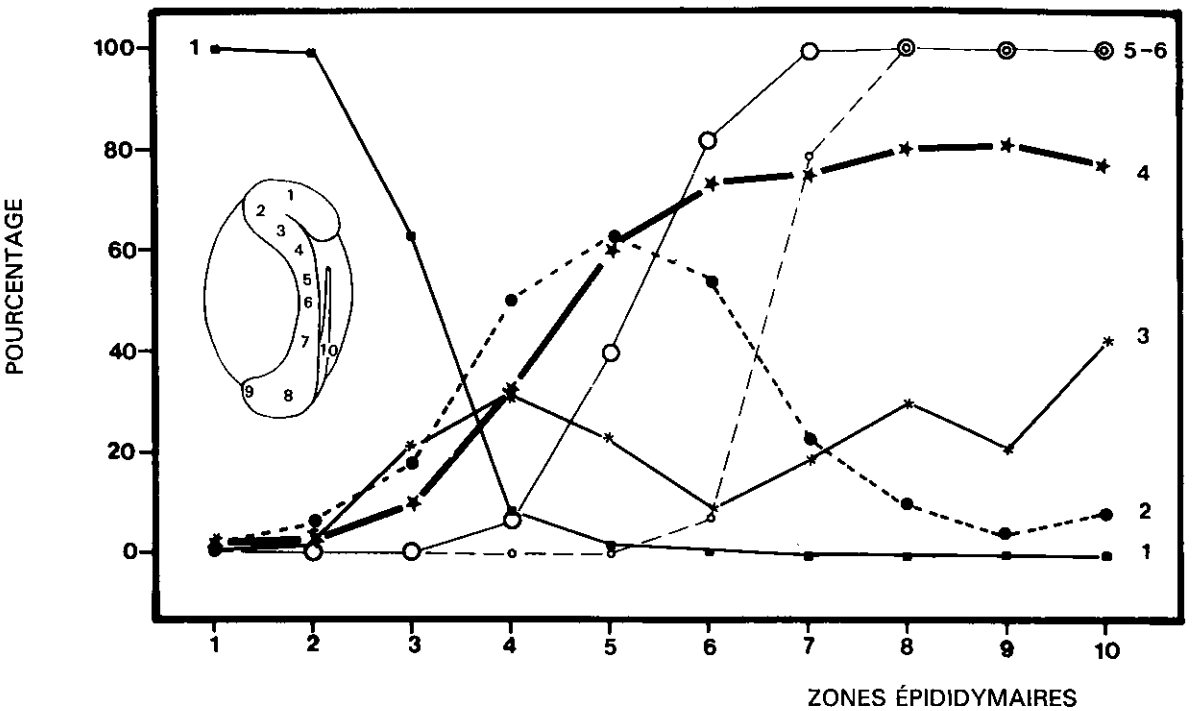
La forme du spermatozoide, c'est à dire sa longueur, la forme de son noyau etc. sont pratiquement définitives dès leur sortie du testicule. Toutefois chez le verrat, comme chez d'autres espèces, le spermatozoide testiculaire est caractérisé par l'existence d'un résidu cytoplasmique au niveau de la partie basale du noyau (gouttelette cytoplasmique). Lors du transit des spermatozoides dans la région antérieure de l'épididyme, cette structure migre en position distale, c'est à dire dans la région basale de la piéce intermédiaire. Cette migration est très rapide et se produit dans une zone épididymaire très précise (figure 3). Cette gouttelette se détache très souvent du spermatozoide lors de l'éjaculation.

II- MODIFICATIONS DE LA MOTILITÉ DES SPERMATOZOIDES

Les spermotozoides testiculaires ne présentent que des mouvements lents d'oscillations du flagelle. Chez le Verrat, les spermatozoides épididymaires observés directement dans leur milieu d'origine sont très peu mobiles quel que soit le niveau épididymaire de prélèvement (DACHEUX, PAQUIGNON 1980, PAQUIGNON *et al.*, 1982). Par contre, ces mêmes spermatozoides dilués dans un milieu salin, sont de plus en plus mobiles au fur et à mesure de leur transit dans l'épididyme

FIGURE 3

PROFIL DE MATURATION DES SPERMATOZOIDES DE VERRAT AU COURS DE LEUR TRANSIT DANS L'ÉPIDIDYME



1 : Présence sur les spermatozoïdes de gouttelette cytoplasmique en position proximale. 2 : Taux d'agglutination entre spermatozoïdes après incubation dans un milieu salin. 3 : Pourcentage de spermatozoïdes susceptibles de lier des gamma globulines présentes dans le sang, 4 : Pourcentage de spermatozoïdes motiles. 5-6 : Aptitude des spermatozoïdes à se fixer sur un ovocyte, 5 : ○ pourcentage des ovocytes ayant fixé au moins un spermatozoïde, 6 : o pourcentage des ovocytes complètement recouvert de spermatozoïdes (Planche 2B).

(figure 3). Le type de mobilité des spermatozoides évolue en fonction de leur position dans l'épididyme. Dans la région antérieure, aucun spermatozoide n'est progressif, le déplacement des gamètes n'apparait que dans la seconde partie de l'épididyme (figure 4). L'apparition de la motilité progressive est en rapport avec l'efficacité du battement flagellaire en particulier avec sa fréquence qui s'accroit au cours du transit (BORK *et al.*, 1986) (Tableau 1).

TABLEAU 1

ÉVOLUTION DES FRÉQUENCES DE BATTEMENTS FLAGELLAIRES ET DES VITESSES DE PROGRESSION DES SPERMATOZOIDES DANS LA RÉGION ANTÉRIEURE (3 & 4), MÉDIANE (6) ET CAUDALE (10) DE L'ÉPIDIDYME

Régions Épididymaires	Fréquence de battement du Flagelle (Hz)	Vitesse de progression des gamètes (μm/s)
3	10.4 ± 1.0 (10)*	32.3 ± 3.4 (13)
4	13.4 ± 0,7 (10)	52.1 ± 5.8 (10)
6	15.5 ± 1.5 (6)	73.8 ± 4.6 (21)
10	18.8 ± 1.9 (10)	83.5 ± 4.2 (23)

* M ± sd (n).

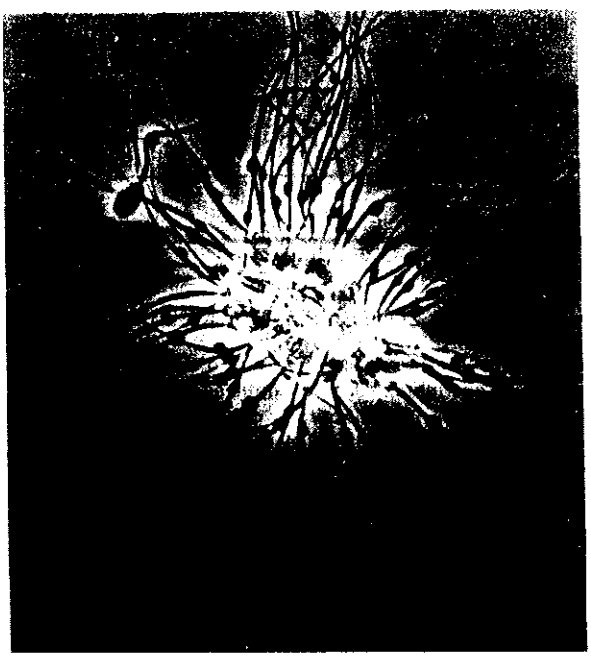
III- MODIFICATIONS DE LA MEMBRANE DES SPERMATOZOIDES

La plupart des modifications membranaires des spermatozoides au cours du transit épididymaire se traduisent par des changements dans les caractéristiques de surface des gamètes. Ces changements sont illustrés principalement par l'apparition d'une phase d'agglutination entre sperma-

tozoides (figures 3 et 4A) et d'une aptitude à se fixer sur la membrane d'un ovocyte ou sur sa pellucide (figures 3 et 4B) (DACHEUX, O'SHEA, PAQUIGNON, 1983). L'analyse biochimique des protéines de surface de la membrane des spermatozoides révèle trois phases importantes dans la maturation des gamètes. La première phase qui se produit dans les premières zones épidiymaires, est caractérisée par la perte ou le masquage des composés protéiques présents à la surface des spermatozoides testiculaires. La seconde est une phase de transition durant laquelle un certain nombre d'éléments apparait et disparait de la surface du gamète (région médiane) ; enfin dans la dernière partie du transit, des protéines nouvelles (de poids moléculaire de 15 à 30 KDaltons) caractéristiques d'un spermatozoide fécondant se mettent progressivement en place sur la membrane des gamètes (DACHEUX, PAQUIGNON, 1987).

FIGURE 4 .

A : AGGLUTINATION DE SPERMATOZOIDES



La phase d'agglutination des spermatozoïdes apparaît lorsque les spermatozoïdes sont incubés dans un milieu salin. Le nombre de spermatozoïdes agglutinés est maximum dans la région médiane de l'épididyme, dans la région caudale la présence d'une protéine épididymaire prévient un tel phénomène.

B : FIXATION DE SPERMATOZOIDES MATURES SUR UN OVOCYTE « DÉPELLUCIDÉ » DE HAMSTER

La propriété d'adhésion du spermatozoïde sur l'ovocyte apparaît dans la région médiane de l'épididyme. Cette propriété peut être quantifiée en utilisant des ovocytes de hamster qui sont également reconnus par le spermatozoïde de verrat.

EVOLUTION DU PROFIL DE MATURATION EPIDIDYMAIRE DES SPERMATOZOIDES

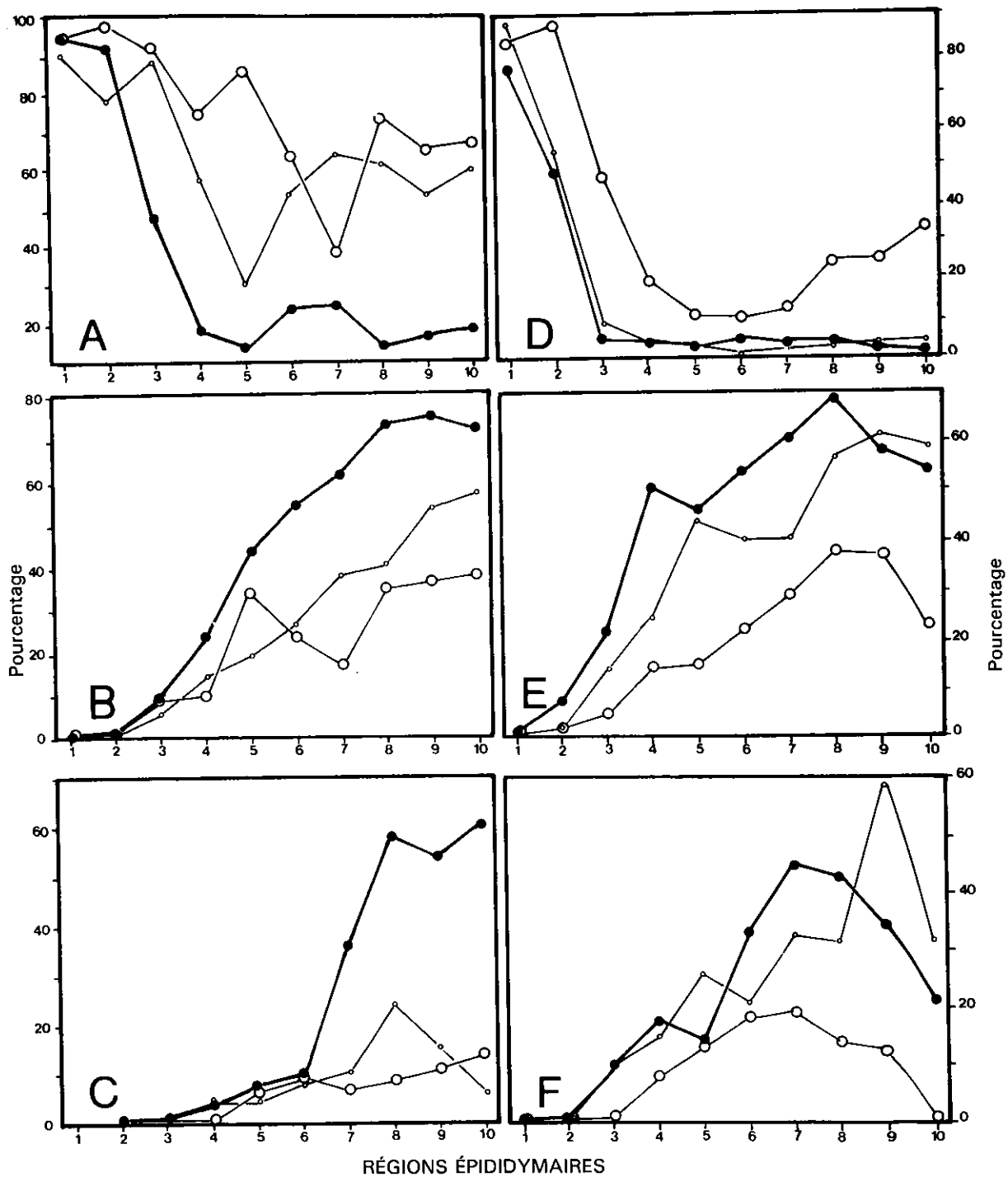
I- AGE DES ANIMAUX :

Grâce à des indices de maturation du gamète faciles à quantifier tels que : position de la gouttelette cytoplamisque, pourcentage de gamètes motiles et progressifs, il est possible de définir l'état de maturation des gamètes et pour un animal, d'estimer l'état de fonctionnement de l'épididyme. Ainsi par cette approche, il a pu être montré que la mise en place de la fonction épididymaire lors de la puberté se fait de façon progressive. Un profil normal de maturation épididymaire n'est

observé qu'après 180 jours pour la race Large-White et 150 jours pour la race Meishan (figure 5) (PAQUIGNON, DACHEUX 1987). Durant la mise en place de la fonction épididymaire, le pourcentage de spermatozoides mobiles et progressifs s'accroît régulièrement et de moins en moins de spermatozoides à gouttelette proximale sont observés au cours du transit.

FIGURE 5

ÉVOLUTION DU PROFIL DE MATURATION ÉPIDIDYMAIRE DES SPERMATOZOIDES
(en fonction de l'âge de verrats de race Large-White (A-B-C) pour 150j -O-, 165j -o- et 180j -•-) et de race Meishan (D-E-F) pour 90j -o-, 120j -o- et 150j -•-)



A-D : Pourcentage de spermatozoïdes avec gouttelette cytoplasmique proximale, B-E : Pourcentage de motilité, C-F : Spermatozoïdes progressifs. Ces valeurs sont les moyennes d'observations de 6 animaux.

II- ETAT DES ANIMAUX

L 'épididyme est sensible à la température locale de l'organe. La température de cet organe est nettement plus basse que la température corporelle (30-34°C). Une élévation de la température corporelle de l'animal peut entrainer de nombreuses anomalies de maturation des gamètes. Ces perturbations se traduisent par une baisse du pourcentage de spermatazoides mobiles et par de nombreux spermatozoides endommagés. Elles s'observent très souvent à la suite d'infection et de fièvre, ou d'interventions chirurgicales sur l'animal. Ces anomalies s'observent très rapidement dans l'éjaculat.

CONCLUSION

La maturation des gamètes dans l'épididyme est une phase décisive dans l'acquisition du pouvoir fécondant. Les critères de qualité qui sont généralement utilisés pour juger de l'état de la semence (pourcentage de motilité, motilité progressive, goutellettes cytoplasmiques) permettent également d'apprécier le fonctionnement de l'épididyme. Des perturbations importantes de l'activité entrainent immédiatement une très mauvaise fertilité de l'animal. Des variations moins perceptibles du fonctionnement de cet organe pourrait très certainement être à l'origine des différences de qualité des spermatozoides entre animaux notamment dans leur aptitude à la conservation soit en milieu liquide soit par congélation.

BIBLIOGRAPHIE :

- BORK K., CHEVRIER C., PAQUIGNON M., JOUANNET P., DACHEUX J.L. Article en préparation.
- DACHEUX J.L., PAQUIGNON M., 1980a. Reprod. Nutr. Develop., **20**, 1085-1099.
- DACHEUX J.L., PAQUIGNON M., 1987. Biol. Reprod. article soumis à publication.
- DACHEUX J.L., O'SHEA, T., PAQUIGNON M., 1979. J. Reprod. Fert. **55**, 287- 296.
- DACHEUX J.L., PAQUIGNON M., LANNEAU M. 1984. Ann, N.Y. Acad. Sci, **438**, 526-529.
- DACHEUX J.L., PAQUIGNON M., COMBARNOUS Y., 1983. J. Reprod. Fert., **67**, 181-189.
- JEULIN C., SOUFIR J.C., MARSON J., PAQUIGNON M., DACHEUX J.L., 1987. J. Reprod. Fert. (sous presse).
- NOVAK. R., PAQUIGNON M., SIGNORET J.P., 1984. Ann. Zootech. **33**, 353- 366.
- PAQUIGNON M, DACHEUX J.L., 1987. J. Reprod. Fert., article en préparation.
- PAQUIGNON M, DACHEUX J.L., JEULIN C., FAUQUENOT A., 1982. The Sperm Cell, Ed. J. André, 332-335.
- SINGH G., 1962. Ann. Biol. Anim. Biophys. **2**, 43-46.