

Chapitre V : Physiologie de l'activité sexuelle du mâle

L'activité sexuelle du mâle s'installe à la puberté et se maintient tout au long de la vie de l'animal. Chez les espèces saisonnières (ovins, caprins), on note lors de la période défavorable un ralentissement de la production des spermatozoïdes.

La fonction génitale mâle arbore deux aspects qui sont sous le contrôle du complexe hypothalamo-hypophysaire : La fabrication des spermatozoïdes associés aux sécrétions des glandes annexes constituant le sperme émis lors de l'éjaculation, et la synthèse de la testostérone.

5.1. Caractéristiques physico-chimiques du sperme

Le sperme ou semence est un liquide physiologique composé de deux fractions : les spermatozoïdes et le plasma séminal. Ce plasma est sécrété d'abord par les cellules de Sertoli dans les tubes séminifères, puis par les glandes annexes. Le sperme contient de nombreux éléments minéraux (Cl^- , Na^+ , K^+ , etc.) et de l'acide lactique, produit du métabolisme des spermatozoïdes. Son **pH** est proche de la neutralité.

Tableau 11 : Composition chimique et pH du sperme de mammifères domestiques.

	TAUREAU	BELIER	VERRAT	ETALON
POIDS SEC (G/100ML)	9.5	14.8	4.6	2.5
FRUCTOSE (MG/100 ML)	540	247	12	15
AZOTE TOTAL (MG/100 ML)	756	875	613	167
CHLORURE (MG/100 ML)	371	87	328	264
SODIUM (MG/100 ML)	129	103	646	68
POTASSIUM (MG/100 ML)	325	71	243	62
ACIDE CITRIQUE (MG/100 ML)	720	137	141	50
ACIDE LACTIQUE (MG/100 ML)	29	36	27	15
pH	6.5 – 6.9	5.9 – 7.3	7.3 – 7.9	6.2 – 7.8
SORBITOL	75	72	12	40
GLYCERYLPHOSPHORYLCHOLINE	350	1650	175	70
INOSITOL	35	12	530	30
ERGOTHIONINE	0	0	15	75
PLASMALOGENE	60	380	-	-
CALCIUM	44	11	5	20
MAGNESIUM	9	8	11	3

5.1.1. Aspect du sperme

Le sperme est un liquide épais, clair, crémeux et de couleur variable suivant les espèces : blanchâtre chez le taureau, le chien et les rongeurs, blanc jaunâtre chez le bœuf et le bouc, blanc laiteux ou grisâtre chez le verrat et l'étalon. L'opacité est fonction de la concentration spermatique. Ainsi, chez le verrat, la couleur la plus blanche représente la plus forte concentration.

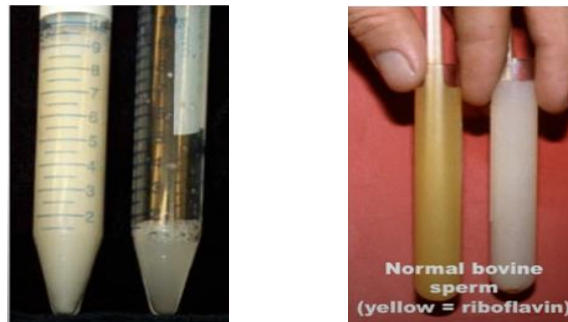


Figure 101 : Aspect normal du sperme bovin.

Le sperme est souvent constitué de trois fractions dont le pourcentage de chacune est variable selon l'espèce. Il demeure liquide chez le taureau ou le chien. Il se gélifie au contraire chez l'étalon. Chez le verrat, l'éjaculat présente des flocons gélatineux ressemblant à du tapioca, et qui finissent par se prendre en masse. Chez le chien, le sperme est composé de trois fractions :

- ✓ La première, de faible volume (0.25 à 2.8 ml) : liquide clair, blanchâtre, renfermant peu de spermatozoïdes ; produit des sécrétions urétrales.
- ✓ La deuxième (0.4 à 3.5 ml, soit 6 à 7 % du volume total) : visqueuse, crémeuse, de couleur blanchâtre : c'est la véritable fraction spermatique.
- ✓ La troisième, la plus volumineuse (1.1 à 16.3 ml, soit 80 à 90 % du volume total), représente la sécrétion prostatique. D'aspect aqueux, jaunâtre, elle renferme peu de spermatozoïdes.

5.1.2. Volume

Le volume de sperme est très variable selon les espèces et dans une même espèce, suivant l'état physiologique du mâle, l'individu, la race, le format, le nombre de saillies ou de récoltes, les méthodes de récolte, les facteurs hygiéniques et alimentaires.

Chez les espèces à insémination de type utérin (cheval, porc, chien), le sperme est abondant et peu concentré, contrairement aux espèces à insémination de type vaginal (Bovins, Ovins, Lapin) où il est peu abondant et très concentré.

Le volume du sperme est en moyenne, de 5 ml chez le taureau et de 1 ml chez le bélier et le bouc, il est de l'ordre de 50 ml chez l'étalon et de 300 ml chez le verrat.

Tableau 12 : Volume et concentration spermatique de l'éjaculat de quelques mammifères.

ESPECES	VOLUME (ML)	NBRE MOYEN DE SPERMATOZOÏDES (* : 10^9 ; ** : 10^6)
TAUREAU	2 – 10	7 – 15 *
BELIER	0.8 – 2	2.4 – 3.6 *
BOUC	1	3.5 *
VERRAT	150 – 500	30 – 90 *
ETALON	40 – 300	5 – 40 *
CHIEN	2 – 30	0.6 – 9 *
CHAT	0.01 – 0.3	15 – 600 **
RAT	0.1	58 ** (1 à 150 **)
SOURIS	0.1	50 **
COBAYE	0.4 – 0.8	80 – 100 **
HAMSTER	0.15	80 **
LAPIN	0.4 – 6	60 – 300 **
MACACA MULATTA	1 – 4.5	400 **

Tableau 13 : Caractéristiques moyennes du sperme de mammifères domestiques.

ESPECES	CONCENTRATION (10^9 /ML)	POURCENTAGE DE SPZ MOBILES (%)
TAUREAU	1.2 (0.5 à 2.5)	65
BELIER	4 (1.5 – 6)	75
VERRAT	0.3	70
ETALON	0.15	65
CHIEN	0.1	85

5.1.3. Odeur

Le sperme serait inodore sauf s'il est contaminé, par exemple chez le verrat, par l'urine ou par les sécrétions de la poche préputiale : il dégage alors une odeur « sui generis » qui rappellerait, en général, l'odeur d'os frais râpé.

5.1.4. Viscosité

La viscosité du sperme total dépend de la concentration en spermatozoïdes, de la charge et, de la conductibilité électrique. La viscosité du sperme du bouc est bien supérieure à celle du taureau. Le poids spécifique du sperme est aussi directement proportionnel à la concentration en spermatozoïdes.

5.2. Les spermatozoïdes

Un spermatozoïde est une petite cellule hautement différenciée de 50 à 80 μm , équipée d'un noyau et d'un long flagelle pour se déplacer. Il n'a pas de réserves, il s'en procure dans le liquide séminal du sperme et dans le milieu utérin. Il comporte trois parties principales :

- ✓ La tête, presque exclusivement constituée d'un noyau à n chromosomes, coiffée de l'acrosome ;
- ✓ La pièce intermédiaire, riche en enzymes propres au métabolisme du spermatozoïde ;
- ✓ Le flagelle, dont les mouvements permettent la motilité du spermatozoïde.

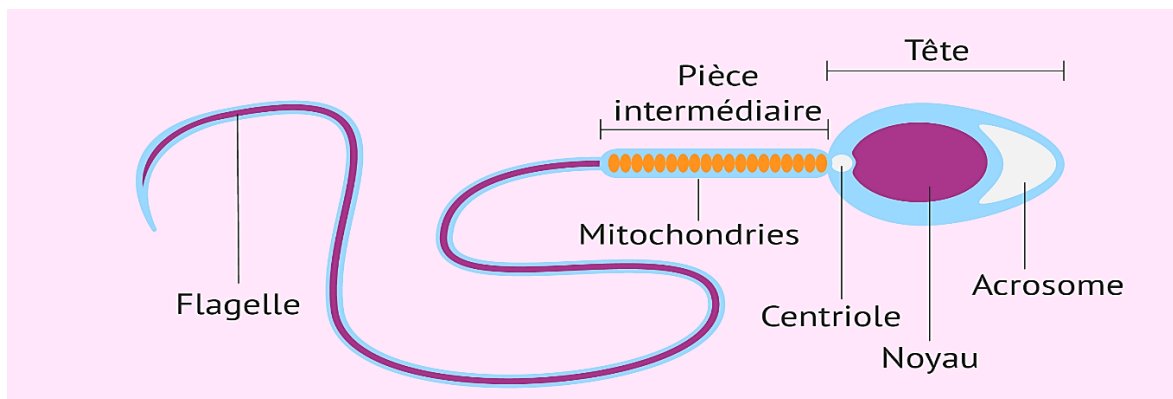


Figure 102 : Schéma du spermatozoïde.

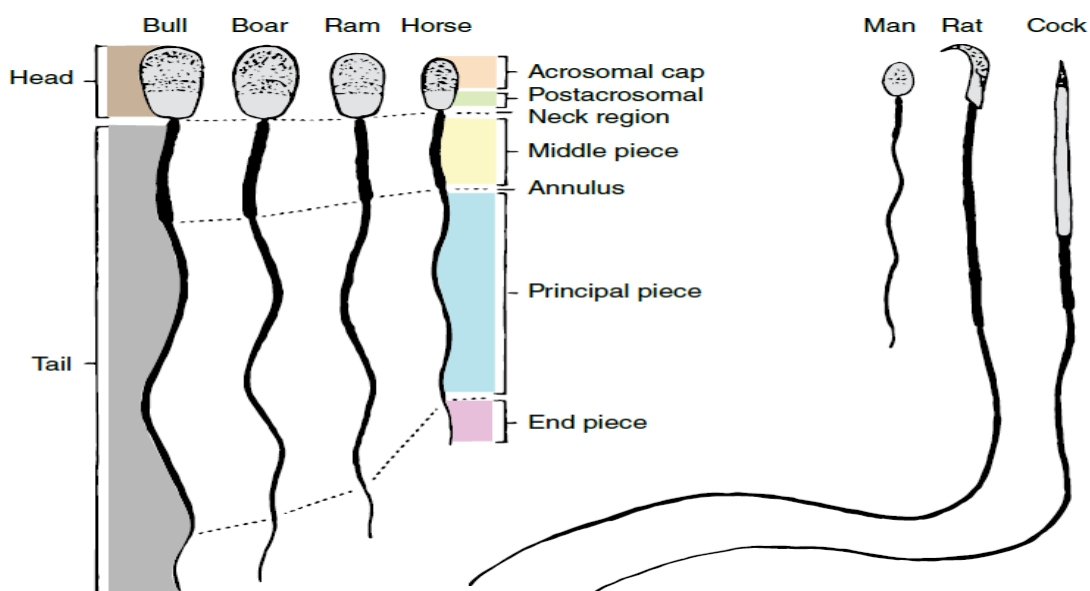
La taille et la forme des spermatozoïdes varient selon les espèces :

- ✚ La tête (5 à 9 μm), de forme ovoïde chez les ruminants, est plus allongée chez l'étalon et le coq. L'acrosome qui recouvre sa partie antérieure est riche en enzymes protéolytiques qui jouent un rôle fondamental lors de la fécondation, en permettant au spermatozoïde de rompre la zone pellucide enveloppant l'ovocyte.

- ✚ Le cou ou col, est très court (1 μm), assure la jonction entre la tête et la pièce intermédiaire ; on y trouve le centriole, point de départ du filament axial, structure principale de la pièce intermédiaire et de la queue.
- ✚ La pièce intermédiaire (8 à 15 μm) est une bande étroite de cytoplasme composée essentiellement d'une gaine mitochondriale a pour rôle de fournir l'énergie nécessaire à la contraction des fibrilles du filament axial et donc à la mobilité du spermatozoïde.
- ✚ Le flagelle (la plus longue partie, de 30 à 50 μm) comporte deux segments : La pièce principale comporte le filament axial entouré d'une gaine protoplasmique fibreuse mince qui disparaît au niveau de la pièce terminale. Il a un rôle essentiellement moteur grâce aux fibres contractiles du filament axial.

Tableau 14 : Taille des spermatozoïdes (en micron).

ESPECES	TETE		PIECE INTERMEDIAIRE		PIECE PRINCIPALE DE LA QUEUE	
	Longueur	Largeur	Longueur	Largeur	Longueur	Largeur
TAUREAU	9.1	4.2	14	0.7	45 – 50	0.5
BELIER	8.2	4.2	14	0.8	40 – 45	0.5
VERRAT	8.5	4.2	10	-	30	-
ETALON	5.0	2.4	8	0.5	30	0.5

**Figure 103** : Comparaison entre spermatozoïdes des animaux de ferme et quelques vertébrés.

5.3. Examen microscopique du sperme

5.3.1. Morphologie des spermatozoïdes

Le spermatozoïde est une cellule dont la structure complexe n'a pu être mise complètement en évidence que par la microscopie électronique.

La présence de spermatozoïdes atypiques indique une baisse de la vitalité du sperme. La détection des anomalies de la tête (variations de dimensions, tête double, absence de tête, renflement et déformation de l'acrosome), de la pièce intermédiaire (dédoublement, flexion...) et du flagelle (enroulement, flexion, absence) et le calcul de leur pourcentage sont des éléments d'information importants pour tester la capacité reproductrice d'un animal.

5.3.2. Concentration des spermatozoïdes

La spermiodensimétrie comprend plusieurs tests dont la mesure de la densité optique, la colorimétrie photoélectrique et la numération sous microscope. Une numération à l'hématimètre Thoma est une méthode simple et précise. Cependant, des cellules de Malassez, de Neubauer conviennent aussi bien, il suffit d'adapter les dilutions et le calcul au volume de la cellule employée.

Si le sperme est très peu concentré (translucide), une dilution au 1/10^{ième} ou 1/20^{ième} sera effectuée. Par contre si le sperme est concentré (aspect laiteux) une dilution au 1/100^{ième} ou 1/200^{ième} sera préférable. La dilution se fait avec une solution de chlorure de sodium hypertonique à 3%, cette solution hypertonique engendre la mort des spermatozoïdes sans provoquer leur lyse. Ainsi, les spermatozoïdes sont immobiles et le comptage est facilité. Après homogénéisation du mélange, la solution est déposée à l'aide d'une micropipette afin de remplir par capillarité, sans bulle d'air, la chambre de l'hématimètre. Il faut alors laisser sédimenter pendant quelques minutes avant de procéder au comptage des spermatozoïdes. Avant le comptage, il faut bien vérifier à faible grossissement, que la répartition des éléments soit homogène, au moindre doute, le mélange sera homogénéisé de nouveau et le montage recommencé. Après repérage des limites de la cellule (grossissement x100), les éléments sont comptés au microscope au grossissement x400. La lame est balayée de façon méthodique, de gauche à droite et du haut vers le bas.

En général les spermatozoïdes sont comptés sur 5 grands carrés. Afin d'éviter de surévaluer le nombre de spermatozoïdes, pour les éléments situés entre deux carrés, ne sont comptés que ceux qui sont à cheval sur les graduations, en général celles formant la lettre L. Le calcul du nombre de spermatozoïdes est présenté dans la formule ci-dessous :

Spermatozoïdes par ml de semence = Nombre de spermatozoïdes comptés x facteur de dilution / Surface considérée (mm²) x profondeur des chambres.

5.3.3. Mobilité ou motilité des spermatozoïdes

Normalement, le spermatozoïde se déplace par des ondulations du flagelle dans un plan et simultanément, il tourne autour de son axe longitudinal progressant ainsi d'un mouvement rectiligne. L'examen de mobilité des spermatozoïdes est réalisé le plus rapidement possible après la récolte du sperme. Il s'agit d'un examen dynamique qui consiste à observer une goutte de sperme au microscope sur une platine chauffée à 37°C pour éviter le ralentissement des spermatozoïdes. En effet, *In vitro*, la température influence l'intensité et la durée des mouvements des spermatozoïdes.

5.3.3.1. Motilité massale

Sur une goutte de sperme déposée sur une lame et observée à faible grossissement (x 100) on observe les mouvements des spermatozoïdes. Ils forment des « vagues » à la surface de la goutte. L'intensité des vagues est évaluée. Une note de 0 à 5 est attribuée à l'échantillon. Cette observation dépend à la fois des mouvements des spermatozoïdes et de la concentration de l'échantillon. Il s'agit d'une méthode subjective, la note de 0 à 5 est semi-quantitative. L'opérateur doit être expérimenté.

5.3.3.2. Motilité individuelle ou motilité progressive

Une goutte de sperme déposée entre lame et lamelle est observée à fort grossissement (x 400). Le sperme doit être dilué au préalable dans une solution de NaCl isotonique tiédie à 37°C, afin que chaque spermatozoïde soit individualisable. Le pourcentage de spermatozoïdes mobiles est évalué de façon subjective. Les

spermatozoïdes progressant en ligne droite (on parle alors de mobilité fléchante) sont distingués des spermatozoïdes tournant en rond, à mobilité faible ou diminuée.

5.3.4. Morphologie des spermatozoïdes

L'examen morphologique des spermatozoïdes, consiste en l'observation au microscope optique d'un frottis de semence coloré le plus souvent à l'éosine-nigrosine ou au Giemsa, à l'encre de Chine ou au rose Bengale. Sous microscope à contraste de phase ou sous immersion (grossissement x 400 à 600), les anomalies sont comptées sur au moins 200 spermatozoïdes.

Un sperme normal comporte 10 à 20 % de spermatozoïdes anormaux, présentant des anomalies des différentes parties principalement de la tête.

On distingue trois types de classifications de la morphologie des spermatozoïdes :

✓ La première dépend du site de dysfonctionnement et sépare les anomalies en **anomalies primaires et secondaires**. La désignation d'anomalie primaire est réservée à des anomalies se produisant lors de la spermatogénèse (à l'intérieur des tubes séminifères) contrairement aux anomalies dites secondaires qui surviennent après la spermatogénèse durant la maturation épидидymaire voire lors de l'éjaculation. Cette classification est toutefois contestable car certaines anomalies comme les gouttelettes proximales classées initialement en anomalies secondaires résultent finalement d'une malformation de la cellule lors de la spermatogénèse et non pas d'un dysfonctionnement épидидymaire comme cela était évoqué auparavant.

✓ La seconde classification est fonction de la répercussion des anomalies des spermatozoïdes sur la fertilité des taureaux. Elle a été proposée par Blom en 1973 et distingue les **anomalies mineures des anomalies majeures**. Cependant, les données actuelles sur la relation entre ces anomalies morphologiques et la fertilité sont limitées, c'est pourquoi cette classification, bien qu'universellement reconnue et utilisée, reste contestable.

✓ La troisième classification est basée sur la localisation de l'anomalie sur le Spermatozoïde : **Anomalie de tête, de pièce intermédiaire, de flagelle.**

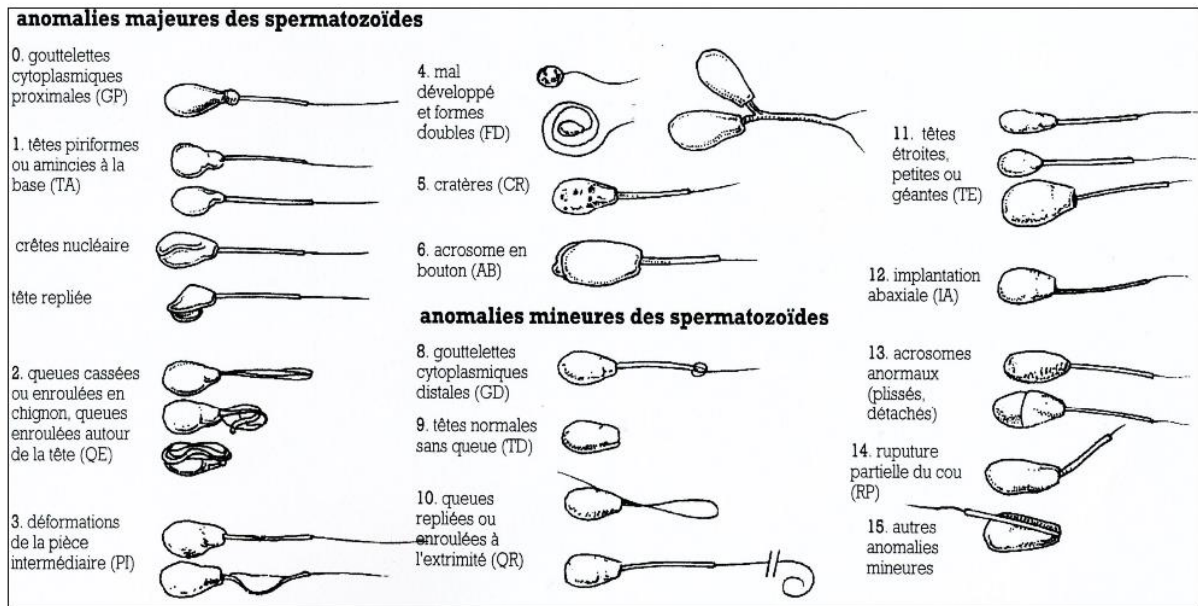


Figure 104 : Anomalies morphologiques de spermatozoïdes de taureau, classification de Blom (1973) simplifiée par Ott (1986) et modifiée par Dumont (1997) (Dumont, 1997).

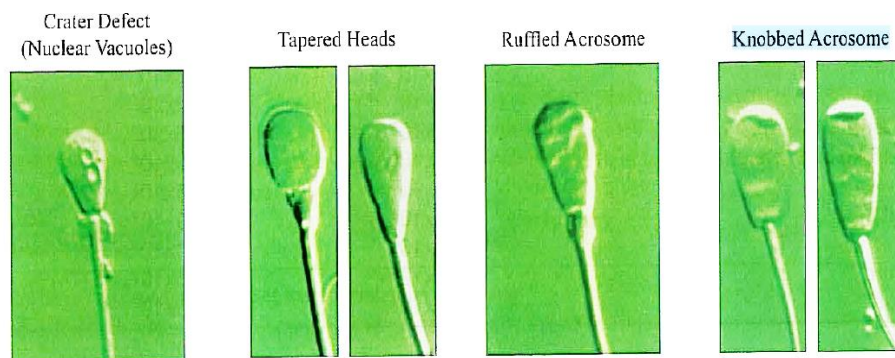


Figure 105 : Anomalies de la tête.

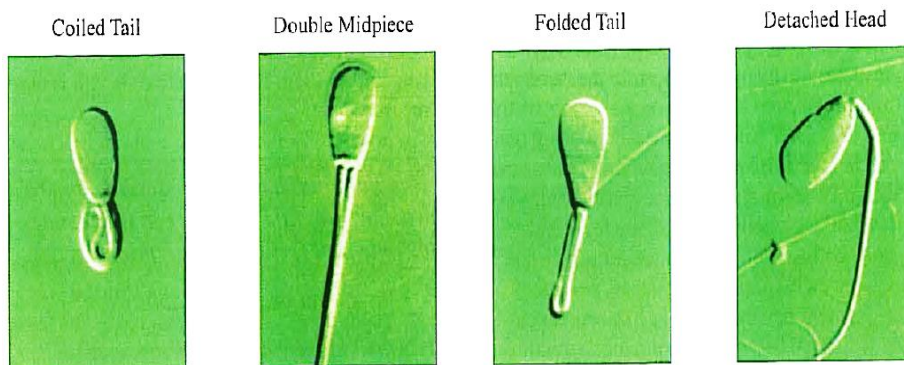


Figure 106 : Anomalies de la queue.

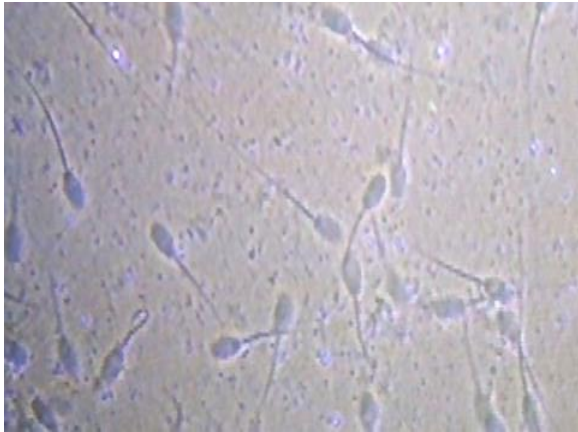


Figure 107 : Spermatozoïdes ovins normaux

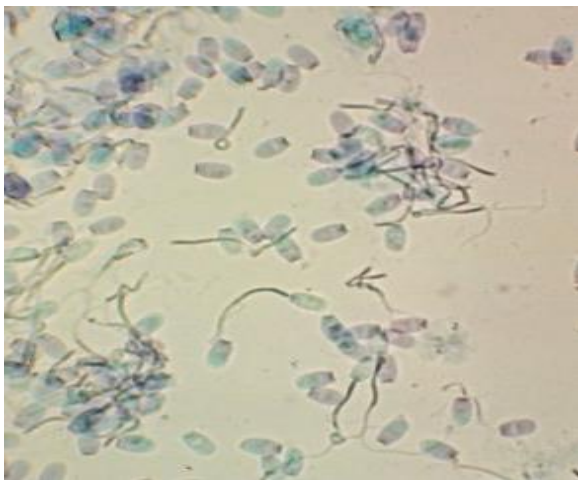
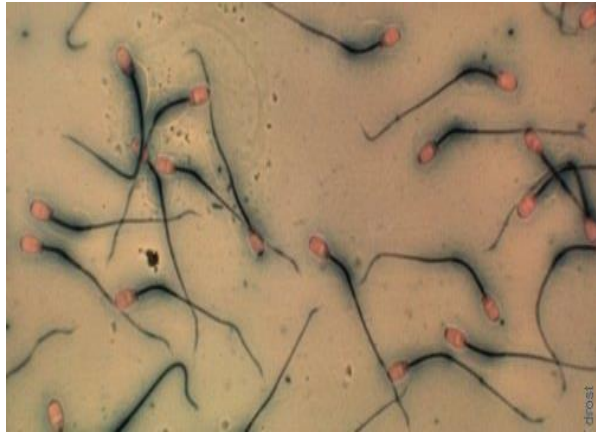


Figure 108 : Têtes détachées de spermatozoïdes ovins.



Figure 109 : Queues enroulées de spermatozoïdes ovins.

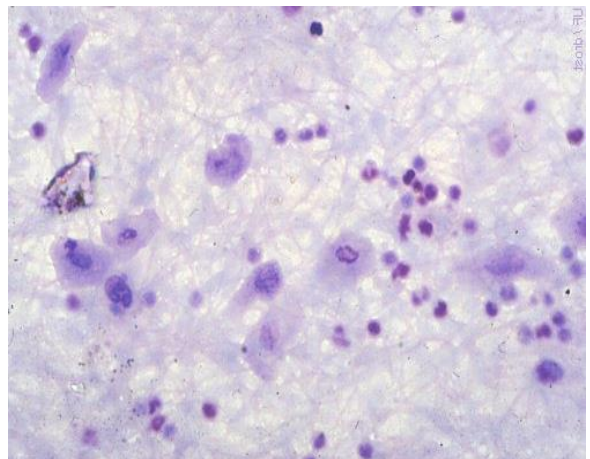
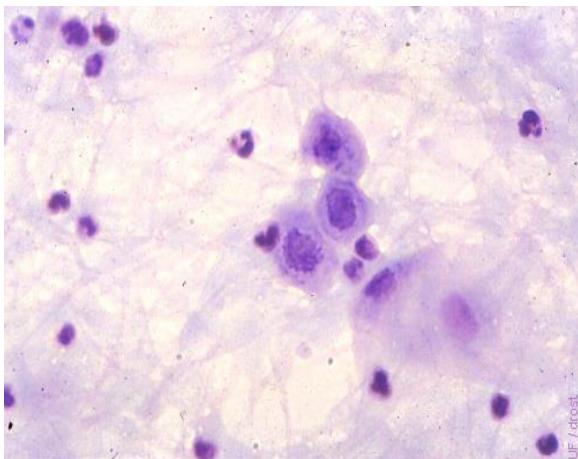


Figure 110 : Neutrophiles dans un échantillon de sperme ovin (infection à *Brucella ovis*).



Figure 111 : Spermatozoïde bovin normal.

5.4. Maturation des spermatozoïdes

A la sortie des tubes séminifères, les spermatozoïdes ne sont ni mobiles, ni aptes à la fécondation. C'est dans l'épididyme qu'ils subissent des modifications biochimiques qui vont leur permettre d'acquérir leur pouvoir fécondant et la capacité de se déplacer, c'est-à-dire leur motilité. Ils restent cependant immobiles dans l'appareil génital mâle. Lors de l'éjaculation, mélangée au plasma séminal, les spermatozoïdes développent alors leur motilité. Ainsi, c'est dans la queue de l'épididyme que les spermatozoïdes subissent les modifications les plus importantes.

La motilité observable sur un éjaculat est un mouvement de masse de l'ensemble des spermatozoïdes suite à leurs mouvements individuels. Ces mouvements individuels se caractérisent par un déplacement en ligne droite vers l'avant, c'est la motilité progressive ou fléchante associée à un mouvement hélicoïdal.

La motilité progressive est acquise dans la queue de l'épididyme sous l'influence de facteurs épидидymaires encore mal connus. Les battements du flagelle sont liés à l'activité métabolique des spermatozoïdes. Les contractions des fibrilles du filament axial sont possibles grâce à l'énergie fournie par la gaine mitochondriale. Le fructose est soit hydrolysé en anaérobiose en acide lactique, soit oxydé en présence d'oxygène.

Bien que suite au passage dans l'épididyme, les spermatozoïdes ont le pouvoir de bouger, ils restent immobiles jusqu'à l'éjaculation. Cependant, si ces derniers sont récupérés dans la partie caudale de l'épididyme et incubés dans un milieu approprié, ils démontrent une excellente motilité in vitro comparativement à ceux récupérés dans la tête de l'épididyme.

A défaut de pouvoir mesurer l'activité métabolique des spermatozoïdes, l'appréciation subjective de la motilité est couramment employée en insémination artificielle comme méthode d'appréciation de la qualité du sperme et du pouvoir fécondant des spermatozoïdes.

La membrane plasmique du spermatozoïde présente une structure classique d'une bicouche lipidique faite d'un mélange hétérogène de stérols, de phospholipides et de glycolipides dans laquelle sont insérées des protéines ou glycoprotéines. Ces protéines sont particulièrement distribuées de façon non homogène sur toute la surface. En d'autres termes, la composition lipidique et glycoprotéique de la membrane plasmique varie d'une région à l'autre. Ce qui amène à la notion de domaine membranaire. Ainsi, au niveau de l'acrosome, se développent des récepteurs à la zone pellucide, tandis qu'au niveau de la zone post-acrosomique se concentrent plutôt des récepteurs à la membrane plasmique de l'ovocyte.

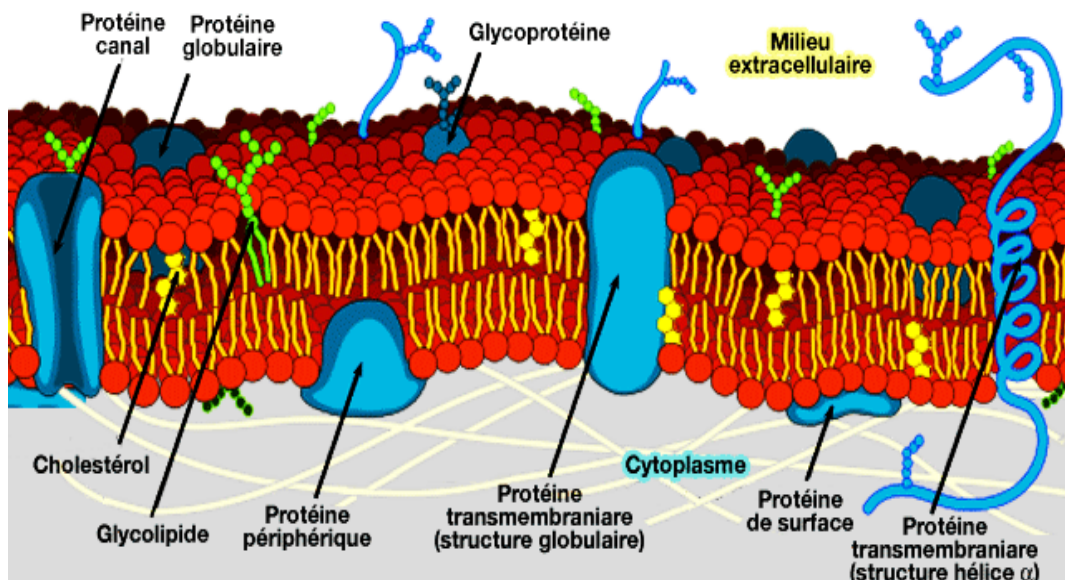


Figure 112 : Structure de la membrane plasmique.

La perte de cholestérol, le remaniement ainsi que l'adsorption de protéines et de lipides sont des caractéristiques de la maturation des spermatozoïdes soit dans l'épididyme et dans le tractus femelle.

5.4.1. Synthèse de protéines par l'épithélium épididymaire

L'environnement de l'épididyme influence grandement la fonction spermatique. Notamment, l'épithélium est très actif au niveau de la sécrétion de protéines. Bien que peu de protéines différentes représentent la majorité des protéines excrétées, la composition diffère d'une espèce à l'autre. Les sécrétions protéiques de l'épithélium de l'épididyme sont très élevées dans la section caput et diminuent progressivement tout au long du trajet épididymaire.

5.4.2. Modification protéique membranaire des spermatozoïdes

Une des premières étapes de la maturation épididymaire est les modifications des protéines membranaires des spermatozoïdes. Ce remaniement se traduit par des pertes, des adsorptions et des modifications de protéines membranaires. Les protéines épididymaires modifiant la membrane des spermatozoïdes peuvent être classées en trois catégories de liaisons soit celles qui sont liées par une faible affinité, celles par des liens électrostatiques et celles qui sont intrinsèques.

Les protéines épididymaires liées par faible affinité aux spermatozoïdes sont facilement enlevées avec un traitement dans un milieu isotonique. Cette addition protège les sites de liaison des spermatozoïdes afin d'empêcher l'activation des récepteurs avant le moment opportun.

Les protéines épididymaires très faiblement liées aux spermatozoïdes le sont par liaison électrostatique. Dans cette catégorie, les principales protéines sont la lactoferrine, la clustérine et la glutathionne peroxydase.

La lactoferrine est généralement associée au transport du métal, mais elle possède aussi des propriétés antivirales, antibactériennes, anti-inflammatoires et antimycotiques.

La clustérine possède un rôle dans le nettoyage des débris et l'apoptose des cellules tandis que la glutathionne peroxydase protège l'organisme contre les dommages oxydatifs.

Les protéines épидидymaires intégrées à la membrane spermatique ne peuvent pas être dissociées avec le pouvoir isotonique. Plusieurs de ces protéines sont glycosylphosphatidylinositol-ancrées (GPI). Dans le cadre des protéines standards GPI-ancrées, celles-ci sont normalement formées par la liaison du peptide signal de la GPI-liée dirigée vers le réticulum endoplasmique du spermatozoïde. Tandis que sa queue hydrophobe (C-terminal) ne peut pas pénétrer la membrane, une partie de la molécule reste à l'extérieur. Ensuite, la liaison C-terminal est clivée et remplacée par la GPI-ancrée. Cette dernière est transférée par vésicule au travers de l'appareil de Golgi pour finalement être trappée au travers la membrane. Cependant, certaines protéines épидидymaires des spermatozoïdes de surface sont GPI-ancrées, fait qui ne peut pas être expliqué par la littérature classique sur la GPI-ancrée. Cependant, il est possible in vitro d'incorporer des protéines aux spermatozoïdes épидидymaires avec l'aide des épидидymosomes.

5.4.3. Les épидидymosomes

Ces vésicules sont sécrétées par l'épithélium de l'épididyme et elles se collent au réticulum endoplasmique des spermatozoïdes. Elles ont été décrites pour la première fois par Yanagimachi et à l'aide du microscope électronique en 1985, et elles ont été nommées épидидymosomes en 2002. Elles ont un diamètre variant de 50 à 500 nanomètres et ont un ratio très élevé cholestérol sur phospholipides, dont la sphingomyéline est la principale composante. Étant donné l'importance de la surface des spermatozoïdes pour son rôle initiateur de la signalisation cellulaire, d'échange avec le milieu ainsi que d'entrée des composantes; l'étude des fonctions exactes des épидидymosomes demeure un élément clé dans la compréhension de la maturation épидидymaire des spermatozoïdes.

5.4.4. Acquisition de la mobilité

Un des principaux impacts de la maturation épидидymaire des spermatozoïdes est la capacité d'acquérir la motilité. En effet, à son entrée dans la tête de l'épididyme le spermatozoïde n'a pas la faculté de se mouvoir contrairement à ceux extraits de la queue de l'épididyme. Cette acquisition s'explique par des modifications protéiques ainsi que par l'impact des composants de son environnement.

5.4.4.1. Aspect protéique

L'acquisition de la mobilité des spermatozoïdes dans le transit épидидymaire a été associée à deux protéines spécifiquement : la Forward Mobility Protein (FMP) ainsi que l'immobiline :

- ✓ La Forward Mobility Protein Couramment nommée FMP, cette protéine de 37 kDa fut décrite en 1978 par Acott et Hopkins. Elle fut retrouvée dans le plasma séminal ainsi que dans l'épididyme de différentes espèces comme le bovin, le porc, l'humain, le caprin et d'autres. Son action se décrit par l'induction de la motilité progressive des spermatozoïdes, soit le mouvement flagellaire ayant une direction rectiligne. Cette protéine est produite par l'épithélium épидидymaire et travaille de concert avec l'adénosine monophosphate cyclique. En présence d'inhibiteur de cette dernière, la FMP ne peut pas exercer son rôle d'initiateur de la motilité progressive. Son action serait d'augmenter le niveau d'adénosine monophosphate cyclique interne du spermatozoïde.
- ✓ **L'Immobiline** est une protéine ressemblant à du mucus. Elle a pour rôle d'empêcher les spermatozoïdes de bouger dans l'épididyme en créant un environnement très visqueux. Cette grosse glycoprotéine est principalement retrouvée dans la partie caudale de l'épididyme du rat. Son effet est purement physique, sa liaison avec les spermatozoïdes les empêche de se mouvoir et sa présence rend le milieu considérablement visqueux. Lors de l'éjaculation, les spermatozoïdes mélangés avec le plasma séminal se départissent de l'immobiline aidant à l'activation de la motilité.

5.4.4.2. Aspect environnemental

Le milieu avec lequel le spermatozoïde interagit a un grand impact sur l'acquisition et l'initiation de la motilité. D'abord, le pH interne des spermatozoïdes augmente tout au long de son transit dans l'épididyme. Le pH interne du spermatozoïde est contrôlé en partie par le pH externe du milieu ainsi que l'activité de la pompe à proton. D'abord, le niveau de calcium intracellulaire est six fois plus élevé dans le caput comparativement au cauda. Malgré le fait qu'un faible niveau de calcium seulement ne puisse pas inhiber la motilité, il est bien établi que cela cause un battement flagellaire asymétrique en lien avec la régulation de la calmoduline.

De plus, les spermatozoïdes du caput démontrent un niveau plus élevé d'AMPc ainsi qu'une activité plus intense de l'adénylyl cyclase. La réponse à l'ajout d'AMPc aux spermatozoïdes a été modulée en fonction de leur provenance dans l'épididyme. Les spermatozoïdes extraits du cauda de l'épididyme ont eu une réponse beaucoup plus élevée à l'ajout d'AMPc que ceux provenant du caput.

Les spermatozoïdes acquièrent leur pouvoir fécondant dans leur passage dans l'épididyme, mais il faut qu'ils restent immobiles jusqu'à l'éjaculation afin d'être efficaces. Donc, certains facteurs assurent que les spermatozoïdes restent en état de dormance durant leur stockage dans l'épididyme. D'abord, le milieu épидидymaire est hyperosmotique dû à la grande quantité de sorbitol empêchant ainsi les spermatozoïdes d'être motiles. Aussi, la membrane plasmique est difficilement perméable au sorbitol. Donc, il ne peut ne pas être utilisé comme source d'énergie privant ainsi les spermatozoïdes. Cependant vers la fin du passage dans l'épididyme, le sorbitol est oxydé en fructose, source d'énergie perméable à la membrane plasmique donc disponible aux spermatozoïdes. Également, la faible concentration de bicarbonate et le pH faible assurent de garder les spermatozoïdes en état de quiétude et d'achever leur maturation.

5.4.5. Acquisition du pouvoir fécondant

L'épididyme permet également la maturation des spermatozoïdes afin d'acquérir le pouvoir fécondant. Un plus grand pourcentage des spermatozoïdes récupérés de sections les plus près de la queue de l'épididyme ont atteint le pouvoir de féconder un ovocyte suite à une maturation adéquate dans un milieu capacitant. Aussi, les spermatozoïdes immatures ne sont pas aptes à subir la réaction de l'acrosome même en présence d'influx de calcium. Ces modifications sont principalement de l'ordre membranaire :

La composition des acides gras membranaires des spermatozoïdes est modifiée lors du transit épидидymaire avec une augmentation de la proportion d'acides gras polyinsaturés changeant la fluidité de la membrane plasmique. Le changement de la fluidité de la membrane serait associé aux changements menant à l'acquisition du pouvoir fécondant. L'apparition de certaines protéines phosphorylées en tyrosine sur les spermatozoïdes durant le transit telles que celles régulées par le glucose, la

protéine « Heat-Shock 70 », l'actine, β -tubuline, l'acide lactique déshydrogénase et des protéines mitochondriales démontrent une partie de l'acquisition du pouvoir fécondant. Cependant, aucune protéine en particulier n'est directement associée à l'acquisition du pouvoir fécondant. Il s'agit plutôt d'un concept d'activation, de modifications structurales de certaines protéines, d'apparition de récepteurs membranaires et finalement l'addition des toutes ces changements qui permet aux spermatozoïdes de subir la capacitation.

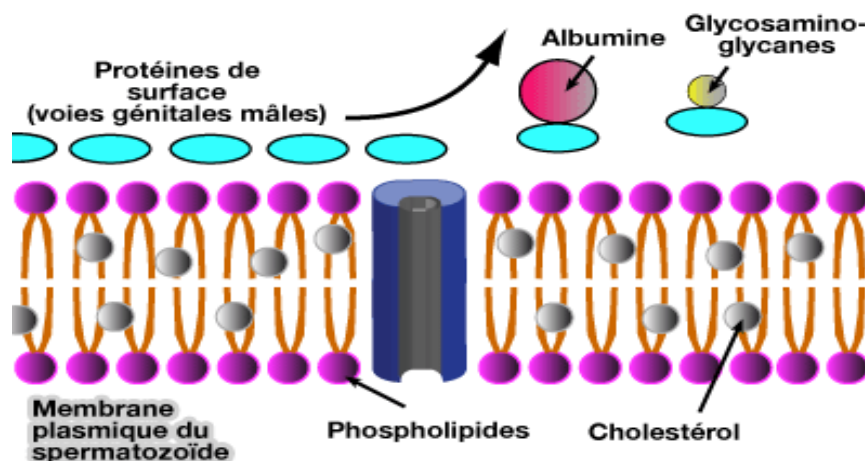


Figure 113 : Capacitation (enlèvement des protéines de surface).

De la réabsorption des fluides testiculaires ainsi que du sodium, de l'excrétion de potassium et de chlore et de l'acidification créant un entreposage idéal, l'épididyme est une étape clé pour la préparation des spermatozoïdes à leur grande finalité.

5.5. La spermatogénèse

A partir de la puberté et tout au long de la vie du mâle, les cellules sexuelles se multiplient dans les testicules. Ces cellules détiennent le code génétique complet de l'animal sous la forme de paires de chromosomes. Elles subissent ensuite une double division appelée méiose (2^{ème} étape). Au cours de la première division de la méiose, les chromosomes de chaque paire sont également répartis entre les deux nouvelles cellules (qui possèdent alors n chromosomes). Les cellules obtenues après la seconde division de méiose se spécialisent en acquérant un flagelle qui leur permet de se déplacer (3^{ème} étape).

Les tubes séminifères représentent environ 80 % du testicule chez le bœuf. Le tube dispose d'une lumière, d'une lame basale et des cellules de soutien ou cellules

de Sertoli. La périphérie du tube séminifère est formée de cellules germinales à $2n$ chromosomes (les spermatogonies). Par trois divisions mitotiques chaque spermatogonie souche donne huit spermatogonies qui après une nouvelle division et accroissement de volume deviennent 16 spermatocytes du premier ordre ou spermatocyte I à $2n$ chromosomes. C'est alors que se produit la méiose, division particulière donnant des cellules à n chromosomes : les spermatocytes du deuxième ordre ou spermatocyte II, qui se divisent à nouveau pour donner 32 spermatides toujours à n chromosomes. Après une longue métamorphose ou **spermiogénèse**, les spermatides deviennent spermatozoïdes.

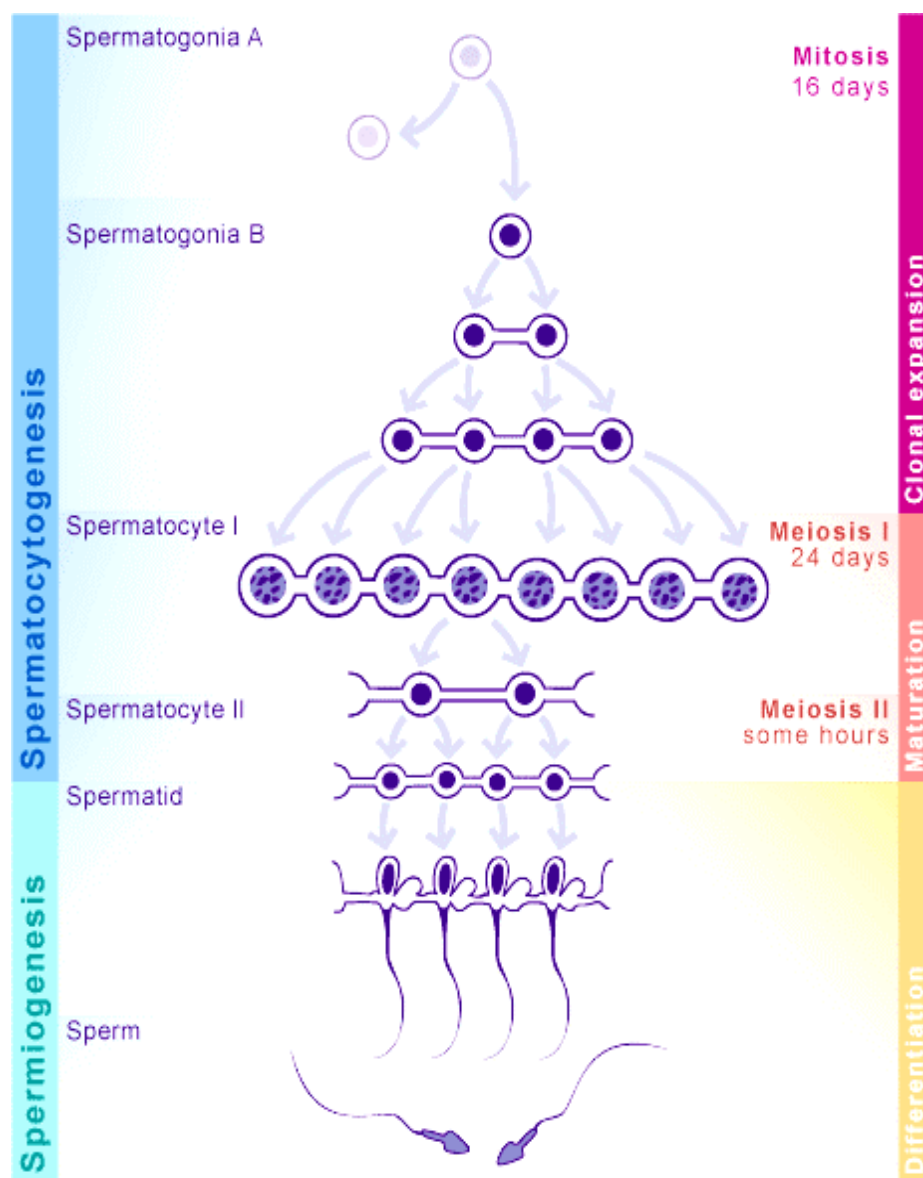


Figure 114 : Phases de la spermatogénèse.

5.5.1. La spermiogénèse

Les spermatides sont des cellules légèrement allongées, disposées en bordure de la lumière du tube séminifère ; leur noyau est relativement volumineux et hyper chromatique et renferme un ou plusieurs nucléoles. Le cytoplasme présente un aspect finement granuleux et le réticulum endoplasmique abondant renferme quelques vésicules. Les ribosomes sont dispersés ou rassemblés en grappes.

Les quatre spermatides nées de la division d'un spermatocyte I ne se divisent plus mais vont subir une série de modifications qui aboutiront à la formation du spermatozoïde. Cette étape portant le nom de spermiogénèse se subdivise en quatre phases : **la phase de Golgi, la phase du capuchon, la phase de l'acrosome et la phase de maturation.**

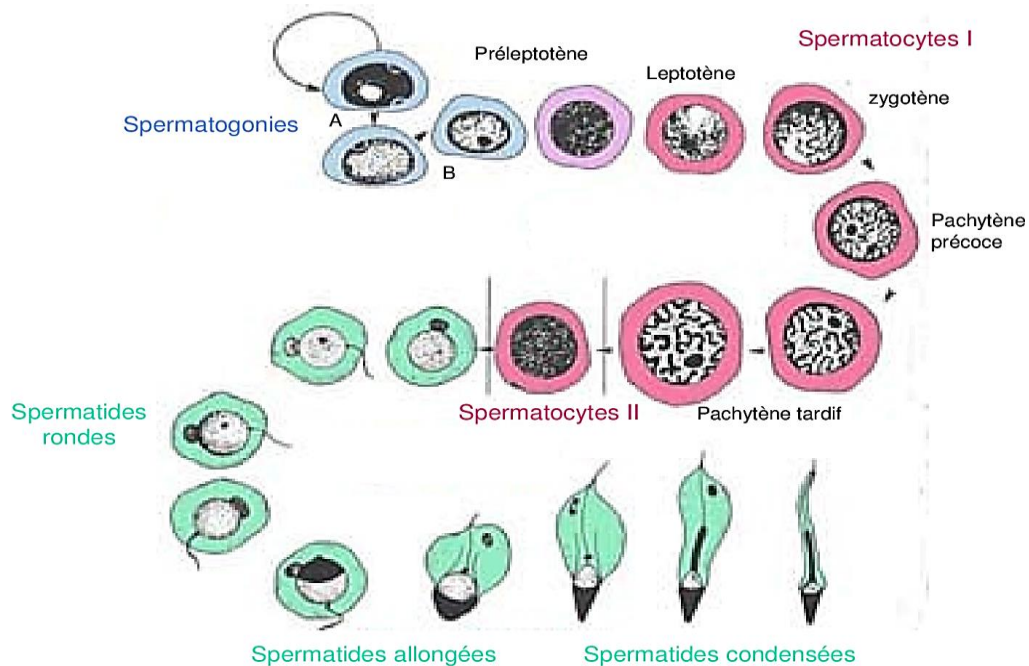


Figure 115 : Le déroulement de la spermatogénèse.

La première transformation intéresse l'appareil de Golgi au niveau duquel apparaissent des granules pro-acrosomiques qui finissent par confluer pour former une vésicule qui va s'étaler sur la partie antérieure du noyau et constituer l'acrosome.

Les centrioles de la spermatide subissent un déplacement ordonné :

- ✓ Le premier centriole, dit centriole proximal, se dispose au voisinage immédiat du pôle nucléaire non revêtu du capuchon céphalique.
- ✓ Le deuxième centriole, dit centriole distal, est situé immédiatement à l'arrière et délimite la portion du spermatozoïde appelée « col » ; c'est de cette zone que naîtront les divers filaments constituant le flagelle du spermatozoïde.
- ✓ Au niveau du voisinage immédiat du noyau, quelques mitochondries s'orientent longitudinalement et parallèlement aux filaments du flagelle tandis que les autres se rassemblent pour former autour d'eux un manchon disposé en hélice, limité à son extrémité distale par un anneau dense décrit sous le nom d'annulus ou anneau centriolaire.

Quant au reste du cytoplasme, il paraît s'écouler au pourtour du noyau pour aboutir à la formation, autour du manchon mitochondrial, de la « gouttelette cytoplasmique », dans laquelle se retrouvent des restes de vésicules golgiennes et du réticulum endoplasmique de la spermatide.

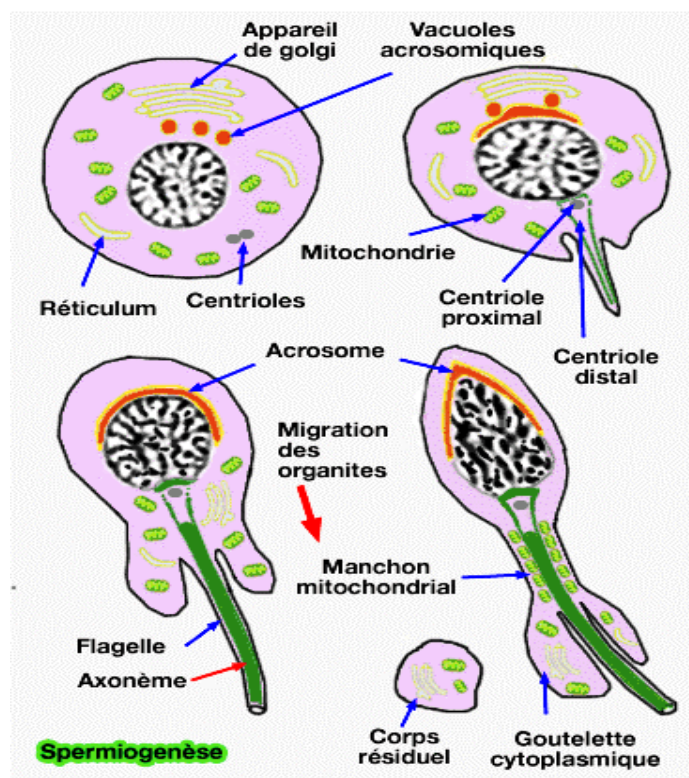


Figure 116 : La spermiogénèse.

Les spermatozoïdes matures sont libérés dans les tubes séminifères sous forme de groupements en paquets ; ils restent temporairement implantés au niveau de la partie apicale des cellules de Sertoli qui assurent leur protection et leur élimination dans la lumière tubulaire et l'épididyme.

En résumé, le développement des cellules spermatiques s'établit progressivement de la membrane basale jusqu'à la lumière du tube séminifère et comprend quatre phases successives :

1. Une phase de division mitotique partant de la spermatogonie souche et passant par les stades de spermatogonie poussièreuses et croûteuses pour aboutir au stade de spermatocyte de 1^{er} ordre. Cette phase a une durée de 15 à 17 jours ;
2. Une phase méiotique ou de réduction chromatique dont la durée est aussi de 15 jours ;
3. Une phase de division des spermatocytes de 2^{ème} ordre en spermatide qui ne demande que quelques heures ;
4. Enfin, une phase de transformation de la spermatide en spermatozoïde ou spermiogénèse d'une durée environ de 15 à 20 jours.

La production des spermatozoïdes est continue mais peut varier suivant les saisons pour certaines espèces (exemple : bœuf, lapin).

La spermatogénèse et la production de sperme débutent à la puberté, c'est-à-dire vers 5 à 8 mois pour le taureau, le bœuf ou le verrat. Dès lors, la spermatogénèse commence, s'accroît puis se maintient jusqu'à la dégénérescence de l'animal due à l'âge. Elle diminue, voire s'arrête chez les mammifères en état de jeûne.

La spermatogénèse ne peut avoir lieu qu'à condition que la température au niveau des testicules soit inférieure à celle du corps. En cas de cryptorchidie, la température trop élevée bloque la spermatogénèse. L'animal est stérile mais la production de testostérone restant normale, son comportement sexuel n'est pas modifié.

La durée de la spermatogenèse est constante pour une espèce donnée : 61 jours pour le taureau, 40 jours pour le verrat, 49 jours pour le bélier et l'étalon. S'ajoute à cette durée celle du transit dans l'épididyme qui est de 10 à 15 jours. C'est pourquoi un spermatozoïde n'est éjaculé, dans les meilleures conditions, que près de 2 mois après le début de sa formation.

Tableau 15 : Durée de la spermatogénèse et du transit épидидymaire chez quelques espèces.

ESPECE	DUREE DE LA SPERMATOGENESE (JOURS)	DUREE DU TRANSIT EPIDIDYMAIRE (JOURS)
TAUREAU	54	9 – 13
BELIER	49	12 – 15
CHIEN	54	9 – 14
LAPIN	52	9 – 12
RAT	53	9 – 10
SOURIS	35	9 – 10
MACAQUE	42	9 – 10
HOMME	74	9 – 10

Les cellules de Sertoli assurent la tenue du tube et nourrissent continuellement les spermatocytes en division et surtout les jeunes spermatozoïdes. Une fois formé, ces spermatozoïdes restent en faisceaux au contact des cellules de Sertoli. Ils seront libérés dans l'épididyme nageant dans un liquide issu des cellules de Sertoli avant de se diluer dans les sécrétions des glandes annexes.

5.5.2. Les cellules de Sertoli

Les cellules de Sertoli représentent les éléments somatiques du tube séminifère. Dérivées de l'épithélium coelomique, elles se multiplient jusqu'à la puberté puis se maintiennent en nombre constant. Elles se présentent sous une forme pyramidale disposées en colonne à base élargie, reposent sur la lame basale et leurs faces latérales sont en contact étroit avec les autres cellules de Sertoli et les cellules germinales. Leur noyau présente une forme irrégulière avec une encoche et son nucléole est bien visible, permettant de les distinguer des cellules germinales au noyau arrondi.

Les cellules de soutien de Sertoli forment la barrière hémato-testiculaire et la nourrissent les futurs spermatozoïdes.

Chaque cellule de Sertoli est reliée aux cellules adjacentes par des jonctions serrées qui délimitent deux compartiments:

1. Un compartiment basal qui contient les spermatogonies et les spermatocytes jusqu'au stade préleptotène,
2. Un compartiment adluminal qui contient les spermatocytes, les spermatides et les spermatozoïdes. La présence d'une **barrière hémato-testiculaire** délimitant deux compartiments empêche la fuite de spermatozoïdes intratubulaires vers la circulation systémique et lymphatique. En effet, le système immunitaire général ne tolère pas les antigènes des spermatozoïdes et peut alors développer des anticorps anti spermatiques pouvant être responsables d'une orchite auto allergique et donc d'une stérilité.

5.6. Régulation de la spermatogénèse

La régulation de la fonction sexuelle du mâle est de type neuroendocrinien. Les facteurs d'environnement, climat, température, photopériode, stress, peuvent modifier l'expression de cette fonction en agissant sur le système nerveux central et l'hypothalamus.

Les hormones intervenant dans cette régulation ont deux origines : le complexe hypothalamo-hypophysaire et les testicules.

5.6.1. Les hormones testiculaires

La testostérone sécrétée par les cellules de Leydig contrôle les caractères sexuels propres du mâle :

- ✓ Les caractères sexuels primaires, qui concernent le fonctionnement du tractus génital : spermatogénèse et sécrétions des glandes annexes, la descente et grossissement des testicules.
- ✓ Les caractères sexuels secondaires : morphologie (conformation, épaississement des cornes chez le taureau, le bouc, le bélier, développement de l'avant-main, développement pileux, etc.
- ✓ Les caractères tertiaires : combativité, comportement sexuel du mâle.

Ces caractères apparaissent à la puberté et se maintiennent ensuite chez l'adulte sous l'influence de la testostérone.

La castration, en supprimant la production de la testostérone, empêchent l'apparition des caractères sexuels lorsqu'elle est réalisée avant la puberté. Elle réduit leur manifestation lorsqu'elle a lieu après la puberté.

La testostérone ne peut agir seule sur les cellules de la lignée germinale. L'ABP (androgen binding protein) produite par les cellules de Sertoli se lie à la testostérone ; le complexe migre vers les cellules germinales et la testostérone peut alors agir. L'ABP sert donc de transporteur à la testostérone. Les cellules de Sertoli sécrètent aussi l'inhibine qui module la synthèse de FSH.

L'inhibine, par action rétrograde, freine la sécrétion de FSH tandis que l'ABP fixe les androgènes d'origine leydigienne et les véhicule jusqu'au contact des membranes plasmiques des cellules germinales où ils se fixent sur les récepteurs cytosoliques qui permettent leur transport jusqu'aux noyaux des cellules.

Les œstrogènes testiculaires sécrétés en petite quantité assurent un feed-back local avec la testostérone.

En résumé, la synthèse de la testostérone par les cellules de Leydig est sous la dépendance de la LH hypophysaire, elle-même soumise à la stimulation de la GnRH hypothalamique. La FSH agit sur les cellules de Sertoli qui vont synthétiser l'ABP ainsi que l'inhibine. La testostérone et l'inhibine exercent un rétro-couplage négatif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire.

Il existe donc une véritable boucle endocrinienne hypophyso-testiculaire. Le système nerveux central extra-hypothalamique intervient également comme le prouvent les anomalies de la spermatogenèse survenant à la suite de lésions des noyaux mamillaires. Enfin, le système végétatif périphérique intervient comme médiateur obligé dans l'action des hormones gonadotropes et sexuelles.

5.6.2. Les hormones hypothalamo-hypophysaires

La GnRH stimule la synthèse et la libération des hormones gonadotropes hypophysaires FSH et LH.

Le SNC sensible aux variations de l'environnement, en répercute les effets sur la fonction sexuelle par l'intermédiaire de l'hypothalamus et de la GnRH. Chez les équins, les ovins et les caprins, c'est la longueur du jour qui le principal facteur influençant la fonction sexuelle du mâle.

La FSH agit au niveau des cellules de l'épithélium germinal : Elle stimule la spermatogénèse, la synthèse par les cellules de Sertoli des œstrogènes, de l'ABP et de l'inhibine.

La LH stimule les cellules de Leydig à sécréter la testostérone qui à son tour contrôlera la sécrétion de LH par action feed-back négative au niveau du complexe hypothalamo-hypophysaire. L'action de la LH est favorisée par la prolactine.

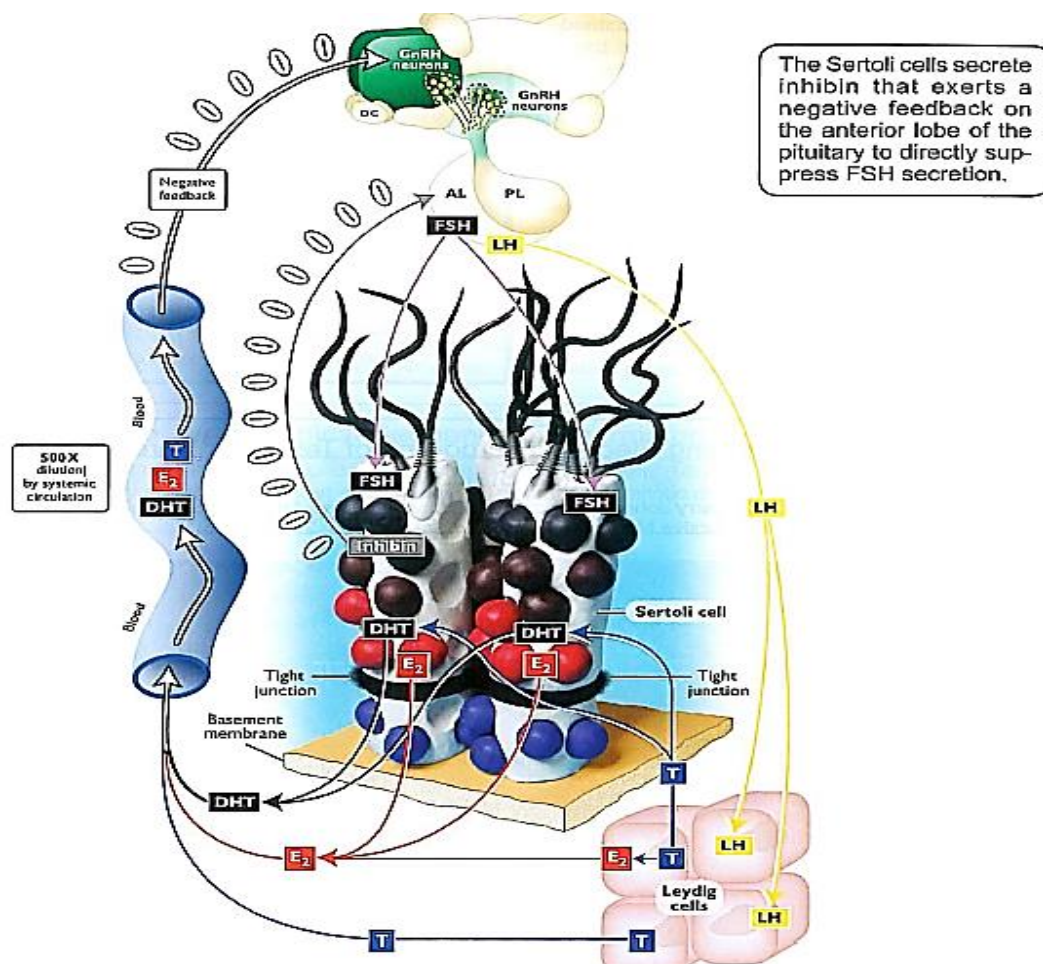


Figure 117 : Régulation de la spermatogénèse.

5.7. Facteurs influençant le déroulement de la spermatogenèse

5.7.1. Facteurs nutritionnels

- ✚ Apport protéique, tant quantitatif que qualitatif.
- ✚ Apport lipidique.
- ✚ Apport vitaminique, notamment la vitamine A. L'absence de vitamine A provoque des lésions dégénératives des spermatozoïdes.
- ✚ Apport en oligoéléments : zinc et cuivre.

5.7.2. Facteurs vasculaires

Le testicule est très sensible à l'ischémie comme le prouvent certains états pathologiques tels le varicocèle et la torsion du cordon testiculaire. La castration par compression du cordon testiculaire entraîne une ischémie qui a pour conséquence la dégénérescence du tissu testiculaire.

5.7.3. Facteurs physiques

5.7.3.1. Température

Une augmentation même légère de la température (43 à 45°C) entraîne des lésions importantes des cellules germinales. Une baisse de température semble aussi nocive. Ceci explique l'effet de la saison sur la spermatogenèse chez les ongulés.

5.7.3.2. Radiations

Les rayons X et les rayons γ provoquent des lésions importantes des cellules germinales surtout les spermatogonies.

5.7.3.3. Facteurs pharmacologiques

De nombreux produits sont toxiques pour les cellules de la lignée germinale. Le chlorure de cadmium provoque une destruction irréversible du parenchyme testiculaire suite à une nécrose testiculaire entraînant une stérilité permanente secondaire à une atteinte vasculaire. Le **cadmium** peut inhiber l'activité de l'enzyme glutathion-peroxydase. D'autres substances tels les **nitrofuranes**, les **dinitropyroles**, les **agents alkylants** sont pour certains des inhibiteurs de la spermatogenèse, pour des autres des agents cytotoxiques des spermatozoïdes.

Bibliographie :

- Aitken, R. J., B. Nixon, M. Lin, A. J. Koppers, Y. H. Lee et M. A. Baker. 2007. Proteomic changes in mammalian spermatozoa during epididymal maturation. *Asian J Androl.* 9: 554-564.
- Apel-Paz, M. 2003. A hierarchy of lipid constructs for the sperm plasma membrane. *Biochem Biophys Res Commun.* 309: 724-732.
- Belleannée, C., V. Labas, A. P. Teixeira-Gomes, J. L. Gattin, J. L. Dacheux et F. Dacheux. 2011. Identification of luminal and secreted proteins in bull epididymis. *J Proteomics.* 74: 59-78.
- Caballero, J., G. Frenette et R. Sullivan. 2011. Post testicular sperm maturational changes in the bull: important role of the epididymosomes and prostasome. *Vet Med In.* 2011. 13 p.
- Chan, H. C., W. O. Fu, Y. W. Chung, P. S. Chan et P. Y. Wong. 1995. An ATP-activated cation conductance in human epididymal cells. *Biol Reprod.* 52: 645-652.
- Cooper, T. G., E. Noonan, S. Von Eckardstein, J. Auger, H. W. Gordon Baker, H. M. Behre, T. B. Haugen, T. Kruger, C. Wang, M. T. Mbizvos et K. M. Vogelsong. 2010. World Health Organization reference values for human semen characteristics. *Hum Reprod Update.* 16: 231-245.
- Cornwall, G. A. 2009. New insights into epididymal biology and function. *Hum Reprod Update.* 15: 213-227.
- Drion, P, Beckers, JF, Derivaux, J, Hanzen, C, Ectors, F. 2002. *Physiologie de la reproduction.* Université de Liège. Faculté de Médecine vétérinaire.
- Fails AD, Magee C: *Anatomy and physiology of farm animals*, 8th ed., 2018.
- Escoffier, E. 2009. La réorganisation de la chromatine au cours de la spermatogénèse.
- Flesch, F. M. et B. M. Gadella. 2000. Dynamics of the mammalian sperm plasma membrane in the process of fertilization. *Biochim Biophys Acta.* 1469: 197-235.
- Gadella, B. M., P. S. Tsai, A. Boerke et I. A. Brewis. 2008. Sperm head membrane reorganisation during capacitation. *Int J Dev Biol.* 52: 473-480.
- Kirichok, Y. et P. V. Lishko. 2011. Rediscovering Sperm Ion Channels with the Patch-Clamp Technique. *Mol Hum Repro.* 17: 478-499.
- Martin A. La capacitation des spermatozoïdes porcins et équins : une question de protéines. 2015. Thèse de Maîtrise en sciences animales.
- Saez, F., A. Ouvrier et J. R. Drevet. 2011. Epididymis cholesterol homeostasis and sperm fertilizing ability. *Asian J Androl.* 13: 11-17.
- Saha, S., K. Das, S. Banerjee, D. Nath, A. Maiti, M. Barua, C. N. Kundu, M. Mandal, J. Chakrabarty, B. S. Jaiswal, D. Bhattacharya, D. Chattopadhyay, S. Dungdung et G. C. Majumder. 2009. *Biomedical*

parameters of sperm flagellar motility initiation and regulation. Adv Medi Sen R. Publication Pvt Ltd, New Delhi.

Senger PL. Pathways to pregnancy and parturition. 2005. 3^{ème} edition. Current Conceptions, Inc.

Sostaric, E., M. Aalberts, B. M. Gadella et T. A. Stout. 2008. The roles of the epididymis and prostasomes in the attainment of fertilizing capacity by stallion sperm. Anim Reprod Sci. 107: 237-248.

Sullivan, R., G. Frenette et J. Girouard. 2007. Epididymosomes are involved in the acquisition of new sperm proteins during epididymal transit. Asian J Androl. 9: 483-491.

Syntin, P., F. Dacheux, X. Druart, J. L. Gatti, N. Okamura et J. L. Dacheux. 1996. Characterization and identification of proteins secreted in the various regions of the adult boar epididym. Biol Reprod. 55: 956-974.

Turner, T. T. 2011. Looking to the future of epididymal research: Why this, why now? J Androl. 32: 705-710.

Usselman, M. C. et R. A. Cone. 1983. Rat sperm are mechanically immobilized in the caudal epididymis by "immobilin," a high molecular weight glycoprotein. Biol Reprod. 29: 1241-1253.

Yeung, C. et T. Cooper. 2002. Acquisition and development of sperm motility upon maturation in the epididymis. The epididymis: from molecules to clinical practice, New-York: 417-434.

Zuo, W. L., S. Li, J. H. Huang, D. L. Yang, G. Zhang, S. L. Chen, Y. C. Ruan, K. N. Ye, C. H. Cheng et W. L. Zhou. 2011. Sodium coupled bicarbonate influx regulates intracellular and apical pH in cultured rat caput epididymal epithelium. PLoS One. 6.

Sitographie :

<http://www.embryology.ch/francais/cgametogen/spermato03.html#spermatozytogenese>

<http://vetopsy.fr/reproduction/male/spermatogenese.php>