► La morphogenèse du flagelle du spermatozoïde humain fait intervenir des processus et des composants cellulaires spécifiques. Des malformations des différentes structures internes du flagelle (axonème et structures périaaxonémales) sont associées à une infertilité. Ces malformations peuvent être classées en 15 phénotypes principaux dont la majorité sont associées à une consanguinité et/ou une incidence familiale, suggérant une origine génétique, bien qu'à ce jour très peu de gènes aient été formellement impliqués. ◀

La structure du cytosquelette interne des cils et du flagelle du spermatozoïde constitue l'axonème, et cette structure a été très bien conservée au cours de l'évolution. Le flagelle du spermatozoïde des mammifères, ainsi que d'autres vertébrés, possède des structures accessoires telles que les fibres denses et la gaine fibreuse. La composition moléculaire de l'axonème a été principalement étudiée chez les invertébrés marins comme les oursins et chez les protistes (organismes unicellulaires) comme *Chlamydomonas*, *Tetrahymena*, *Paramecium* et, plus récemment, *Trypanosoma* et *Leishmania*. Les études chez différentes espèces indiquent que l'axonème comprend environ 550 protéines parmi lesquelles des protéines purement structurales telles que les tubulines, des protéines d'assemblage et des protéines moteurs comme les dynéines [1]. Le protiste *Chlamydomonas* s'est avéré être un excellent modèle pour l'étude des composants moléculaires des axonèmes et des mécanismes de ciliogenèse, du fait de l'existence de nombreux mutants [2].

Les études récentes chez les protozoaires ont mis en évidence les mécanismes d'assemblage des protéines synthétisées dans le cytoplasme, leur transport intraflagellaire, leur renouvellement ainsi que l'importance des protéines membranaires qui interviennent notamment dans des fonctions sensorielles [1]. Chez les métazoaires, il existe des différences dans l'assemblage et la régulation de chaque sous-structure de l'axonème [2].

Malformations de l'appareil flagellaire du spermatozoïde impliquées dans l'infertilité chez l'homme

Denise Escalier¹, Aminata Touré²

¹ Inserm U933, université Pierre et Marie Curie, France ; hôpital Armand Trousseau, 26, avenue du Docteur Arnold Netter, 75012 Paris, France ;

² Institut Cochin, Inserm U1016, CNRS UMR 8104, université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, faculté de médecine, département génétique et développement, 24, rue du Faubourg Saint-Jacques, 75014 Paris, France. aminata.toure@inserm.fr

Structure et mise en place du flagelle chez l'homme

La formation du flagelle du spermatozoïde fait intervenir des processus morphogénétiques complexes et spécifiques de la spermiogenèse, dont les mécanismes moléculaires restent pour la plupart non élucidés. Ces processus, ainsi que plusieurs anomalies morphologiques du spermatozoïde humain, ont été particulièrement bien décrits, sur la base d'observations en microscopie électronique, dans deux atlas de référence [3, 4] ; ils sont schématisés dans la Figure 1A.

Le flagelle du spermatozoïde peut être décomposé en quatre principaux segments : la pièce connective, la pièce intermédiaire, la pièce principale et la pièce terminale (Figure 1B). La pièce connective, région la plus proximale du flagelle, est ancrée sur le noyau et renferme les deux centrioles. Le centriole distal se prolonge par l'axonème, lui-même associé à des fibres denses de longueurs inégales (Figures 2A, 2B). La région juxtaproximale, appelée pièce intermédiaire, est composée de mitochondries disposées en hélice autour des fibres denses et de l'axonème. La pièce intermédiaire est connectée à la pièce principale par l'annulus, aussi appelé anneau de Jensen. La pièce principale comprend les structures axiales du flagelle : elles ne sont pas recouvertes de mitochondries (axonème associé ou non à des fibres denses) mais sont entourées par la gaine fibreuse. Finalement, la pièce terminale, région la plus distale du flagelle, ne comprend que l'axonème (Figure 2A). L'ensemble de ces structures flagellaires, interconnectées les unes avec les autres, est recouvert par la membrane plasmique. C'est cette cohésion structurale qui assure le maintien de

Figure 1. Mise en place et structure du flagelle du spermatozoïde. **A.** Au cours des étapes finales de la spermatogenèse, les spermatides subissent un ensemble de modifications permettant leur différenciation en spermatozoïdes ; ce processus est appelé spermiogenèse. La fusion des vésicules golgiennes permet la formation de l'acrosome, et la compaction de l'ADN par les protamines conduit à la condensation du noyau. Le flagelle est formé par l'assemblage de l'axonème (structure microtubulaire) et par la mise en place des structures périaxonémales (fibres denses externes, gaine fibreuse, annulus et gaine de mitochondries). Ce processus est accompagné de l'apparition de structures transitoires (en bleu) (DCC : dérivé du corps chromatoïde, CAC : corps associé au centriole, SSB : *spindle shaped body*). Ac : acrosome ; An : annulus ; Ax : axonème ; CR : corps résiduel ; FD : fibres denses ; GF : gaine fibreuse ; M : mitochondries ; N : noyau. **B.** Le flagelle du spermatozoïde comprend la pièce intermédiaire, la pièce principale et la pièce terminale. L'axonème s'étend sur toute la longueur du flagelle et est entouré par les fibres denses au niveau des pièces intermédiaire et principale. Les fibres denses sont elles-mêmes entourées par les mitochondries au niveau de la pièce intermédiaire, et par la gaine fibreuse au niveau de la pièce principale. L'annulus se trouve à la jonction des pièces intermédiaire et principale. Au niveau de la pièce terminale, l'axonème est dépourvu de structures périaxonémales. 1 : acrosome, 2 : noyau, 3 : pièce connective, 4 : axonème, 5 : mitochondries, 6 : annulus, 7 : gaine fibreuse. (adapté de [40]).

l'intégrité du spermatozoïde lors des mouvements tridimensionnels de grande amplitude qui accompagnent son déplacement.

L'axonème, structure axiale du flagelle, est composé de neuf doublets de microtubules agencés de manière circulaire autour d'une paire centrale de microtubules (structure de type 9 + 2), et connectés entre eux par les bras de dynéine (Figure 2C). L'axonème constitue le véritable appareil moteur du spermatozoïde et assure sa mobilité tridimensionnelle. Les structures périaxonémales, quant à elles, modulent la courbure de l'axonème (fibres denses et gaine fibreuse) et fournissent des sources d'énergie (mitochondries et gaine fibreuse). La connaissance de la composition protéique de l'axonème est principalement issue des données obtenues sur le flagelle de *Chlamydomonas reinhardtii*. Ce modèle a aussi permis de montrer comment diverses sous-structures de l'axonème modulent l'activité des bras de dynéine [5]. De nombreuses protéines

des fibres denses et de la gaine fibreuse ont été identifiées chez les rongeurs et le protéome du flagelle a ainsi fait l'objet de plusieurs revues [1, 2].

Les malformations flagellaires chez l'homme, lorsqu'elles affectent l'ensemble des spermatozoïdes d'un individu, sont responsables d'une infertilité du fait de l'incapacité des spermatozoïdes à progresser dans les voies génitales féminines. Certaines malformations flagellaires peuvent être observées au microscope optique comme les flagelles de longueur réduite ou d'épaisseur irrégulière. Mais seule la microscopie électronique permet de les préciser et d'identifier spécifiquement la (ou les) structure(s) affectée(s). Il n'est en effet pas rare que la malformation d'une structure

Figure 2. Caractéristiques ultrastructurales du flagelle du spermatozoïde humain. **A.** La distribution des structures péri-axonémales permet de distinguer les différentes pièces flagellaires. Le flagelle est attaché sur une plaque d'implantation accolée à l'enveloppe nucléaire et débute par la pièce connective (PC) dans laquelle se trouvent les centrioles. L'axonème est présent tout le long du flagelle qui mesure 60 μm . La pièce intermédiaire (PI) (1) contient la gaine mitochondriale (M) et les 9 fibres denses (FD). La pièce principale (2 à 4) perd progressivement des fibres denses (FD) et contient la gaine fibreuse constituée d'une succession de demi-anneaux transversaux (AN) reliés entre eux par deux colonnes longitudinales (CL) ; celles-ci sont normalement associées aux doublets 3 et 8 de l'axonème. La pièce terminale (5) ne contient que l'axonème. **B.** Représentation schématisée de la distribution des fibres denses le long de l'axonème. Celles-ci se répartissent principalement en trois catégories (courtes, moyennes, longues) en fonction du doublet axonémale auquel elles sont accolées. **C.** Coupe transversale de l'axonème montrant les neuf doublets microtubulaires (numérotés de 1 à 9) constitués chacun d'un microtubule A complet (13 protofilaments) associé à un microtubule B incomplet (10 protofilaments). Les doublets microtubulaires sont attachés entre eux par des liens de nexine (LN) et entourent une paire de microtubules centraux (C1 et C2). Ces derniers sont attachés entre eux par des ponts et sont entourés par des éléments qui forment la gaine centrale (GC). Les liens associant les doublets à la paire centrale sont les ponts radiaux (PR). Chaque doublet périphérique porte un bras de dynéine externe (BDE, dirigé vers l'espace sous-membranaire) et un bras de dynéine interne (BDI, disposé entre les ponts radiaux), chacun correspondant à un assemblage de protéines motrices.

retentisse sur la bonne mise en place des autres structures, du fait des connexions existant entre ces structures et de la quasi-absence de cytoplasme dans la cellule spermatique [6].

Les différents types de malformations flagellaires chez l'homme

Les malformations flagellaires entraînent un phénotype anormal lorsqu'elles affectent au moins une structure flagellaire donnée dans

tous les spermatozoïdes d'un homme. Le *Tableau 1* répertorie les différentes caractéristiques de ces malformations qui sont également illustrées par des images de microscopie électronique (*Figure 3*). Comme mentionné précédemment, la majorité des malformations constitutives qui concernent un élément flagellaire entraînent également des altérations des autres structures flagellaires précédemment décrites [7]. Dans un but didactique, la description des anomalies a été

Localisation des malformations flagellaires	Type de malformation ; incidence (%)	Malformations associées	Impact sur la mobilité	Incidence familiale (F), consanguinité (C)
Ancrage du flagelle	Flagelles isolés par défaut d'attachement au noyau (Figure 3A) ; 7,1 %	Gaine fibreuse immature	Immobilité	F, C
	Flagelles isolés par séparation des centrioles ; 1 patient [9]	Absence de la pièce connective Absence de gaine mitochondriale (variable) et de migration de l'annulus (variable)	Mobilité	?
	Flagelles isolés suite à un défaut du site de leur implantation (Figure 3B) ; 8,6 %	Flagelles isolés ou angulés	Mobilité ou immobilité	F, C
Gaine mitochondriale	Mitochondries en désordre (Figure 3C) ; 2,8 %	Reste cytoplasmique	?	?
	Gaine géante (Figure 3D) ; 3,6 %	Gaine fibreuse atrophique	Immobilité	F, C
	Gaine absente (Figure 3E) ; 0,7 %	Gaine fibreuse immature	Immobilité	C
Annulus	Absent (Figure 4B) [17]	Gaine mitochondriale malformée Disjonction des pièces intermédiaire et principale	Mobilité réduite	?
	Absence des bras de dynéine externes (Figure 3F) ; 15 %	Flagelles enroulés ou non	Faible progressivité	F, C
	Absence des bras de dynéine internes et des liens de nexine* (Figure 3G) ; 1,4 %	Déplacement de doublets et des structures centrales, et ponts radiaires déformés	Immobilité	F, C
	Absence des bras de dynéine externes et internes* (Figure 3H) ; 2,8 %	Colonnes longitudinales mal disposées	Immobilité	F, C
	Absence des microtubules centraux, de gaine centrale (9 + 0) et de ponts radiaires (Figure 3I) ; 26 %	Défaut généralisé d'assemblage et de croissance de l'axonème (intensité variable) Gaine fibreuse entassée	Immobilité	F, C
	Absence de ponts radiaires (Figure 3J) et de gaine centrale (Figure 3K) ; 7,8 %	Absence de 1 (ou 2) microtubule(s) du centre (ou non)	Mouvements erratiques non progressifs	?
	Absence de doublets et de structures centrales* (Figure 3L) ; 2,1 %	Flagelles enroulés (variable) Gaine fibreuse mal assemblée (variable)	Immobilés (majorité) ou peu progressifs	F, C
	Axonème de longueur excessive ; 1 patient [24]	Flagelles enroulés Absence de bras de dynéine externes	Immobilité	C
Gaine fibreuse	Colonnes longitudinales mal disposées (Figure 3M) ; 21 %	Anomalie de la longueur des fibres denses	Progressivité avec faible amplitude de courbure	F, C
	Anneaux obliques ou longitudinaux (Figure 3N) ; 1,4 %	Gaine fibreuse discontinue Flagelles tronqués	Immobilité ou non progressivité	F, C

Tableau 1. Localisation et caractéristiques des malformations du flagelle du spermatozoïde humain. Les incidences des anomalies sont données à titre indicatif. Elles proviennent d'une série de 140 patients dont les spermatozoïdes étaient porteurs d'anomalies flagellaires caractérisées (données non publiées). Les trois patients seulement décrits dans la littérature [9, 17, 24] ne sont pas inclus. *Gène impliqué identifié. Les anomalies décrites sont illustrées sur la Figure 3.

Figure 3. Microscopie électronique des différentes malformations du flagelle du spermatozoïde humain. Les caractéristiques de ces malformations sont présentées dans le *Tableau 1*. N : noyau. Barres d'échelle : A-E = 1 μ m ; F-N = 0,1 μ m.

simplifiée. Par ailleurs, nous n'avons retenu que les publications les mieux documentées, ou celles qui décrivent pour la première fois un phénotype nouveau.

Malformations de l'ancrage du flagelle

Dans le spermatozoïde normal, la plaque d'implantation apposée dans la région caudale de l'enveloppe nucléaire sert d'ancrage au flagelle (*Figure 2A*). Trois types de malformations de l'ancrage flagellaire peuvent être distingués : l'absence d'ancrage (*Figure 3A*), la disposition ectopique de l'ancrage (*Figure 3B*), la malformation de la pièce connective et la séparation des centrioles [8, 9]. Seuls les spermatozoïdes dont les malformations d'ancrage aboutissent à des flagelles

isolés de la tête avec une gaine fibreuse immature sont généralement immobiles (*Figure 3A*).

Malformations de la gaine mitochondriale

Lors de la spermiogenèse, la formation de la gaine mitochondriale est précédée par la délimitation du domaine flagellaire réservé à la pièce intermédiaire, processus dont les mécanismes moléculaires sont encore inconnus mais qui semble être en relation avec le déplacement distal de l'annulus jusqu'à la jonction avec la pièce principale. Par la suite, les mitochondries présentes dans le cytoplasme de la spermatide migrent et s'alignent autour des structures axiales de la pièce intermédiaire (axonème et fibres denses). Les mitochondries s'attachent finalement les unes aux autres en formant une hélice, tandis que le cytoplasme est éliminé sous la forme d'un corps résiduel (*Figure 1A*).

Il existe des cas d'hélice mitochondriale mal assemblée dans lesquels les mitochondries montrent un désordre d'orientation et/ou de forme (*Figure 3C*). La gaine mitochondriale peut également être géante (*Figure 3D*) et recouvrir en partie la région normalement dédiée à la pièce principale du flagelle qui s'en trouve atrophiée [10]. Une autre anomalie bien caractérisée est l'absence totale de gaine mitochondriale malgré la constitution du domaine flagellaire qui lui est réservé (*Figure 3E*) [11]. Cette incapacité des mitochondries à migrer vers la pièce intermédiaire est associée à une gaine fibreuse immature. Il est à noter que dans ce dernier cas, l'élimination du résidu cytoplasmique au cours de la spermiogenèse a bien lieu. Ce type de malformation spermatique indique que les processus de morphogénèse sont indépendants : lorsqu'un facteur morphogénétique est bloqué, des processus ultérieurs de la spermiogenèse peuvent tout de même se mettre en place.

Malformations de l'annulus

L'annulus est une structure en anneau sous membranaire assemblée dans la spermatide ronde au cours du processus de différenciation en spermatozoïde (*Figure 1A*, *Figure 4*). Très récemment, certains de ses composants ont été identifiés. Il a ainsi été montré que les septines (septines 1, 4, 6, 7 et 12), des petites protéines G impliquées notamment dans les remaniements cellulaires et la cytokinèse, forment des homo et hétéropolymères constitutifs de l'annulus chez l'homme et la souris [12, 13]. La protéine transmembranaire TAT1 (*testis anion transporter 1*)/SLC26A8 (*solute carrier family 26, member 8*) est également localisée au niveau de l'annulus et pourrait permettre l'ancrage des polymères de septines à la membrane plasmique [14, 15].

De manière intéressante, l'inactivation des gènes *Septin 4* et *Tat1* chez la souris conduit respectivement à une absence et à une atrophie de l'annulus [12-14].

Bien que la contribution exacte de l'annulus au processus de croissance flagellaire et à la délimitation des territoires qu'occuperont les pièces intermédiaire et principale ne soit pas encore connue, une étude récente révèle son rôle de barrière de diffusion contrôlant vraisemblablement la localisation spatiotemporelle de molécules lors de la maturation du spermatozoïde. En effet, l'absence d'annulus – chez la souris dont le gène *Septin 4* a été invalidé – compromet la relocalisation de la protéine de surface Basigin (CD147) depuis la pièce principale où elle est initialement confinée jusqu'à la pièce intermédiaire [16].

Chez l'homme, une absence de l'annulus a été mise en évidence dans les spermatozoïdes de sujets infertiles présentant une asthénozoospermie modérée [17-19] comme le montrent l'absence des septines et de la protéine TAT1 (Figure 4A) ainsi que l'analyse en microscopie électronique (Figure 4B). Chez ce patient [17, 18], l'absence d'annulus est associée à des défauts d'organisation de la gaine mitochondriale et à une disjonction des pièces intermédiaire et principale (Figure 4B), anomalies associées qui ont également été observées chez la souris *knock out* pour *Tat1* [14].

Chez le trypanosome, le flagelle émerge de la cellule à partir d'une structure apparentée à l'annulus des spermatozoïdes de mammifères (*flagellar pocket collar*). Cette structure est contenue dans une poche localisée à la base du flagelle (*flagellar pocket*) et connue pour intervenir dans les mécanismes d'endocytose et d'exocytose [20]. Les septines sont également localisées sous forme d'un anneau à la base de certains cils primaires et sont essentielles à la croissance de ces derniers. Les septines et les structures de type annulus pourraient donc être impliquées dans des pathologies complexes affectant la ciliogenèse. Par ailleurs, les septines interagissent avec de nombreuses protéines et leur responsabilité dans diverses pathologies humaines est connue [21].

Malformations de l'axonème

L'axonème est constitué d'un ensemble microtubulaire qui forme un cylindre de 0,25 µm de diamètre, de liens connectant les différents microtubules et de bras accrochés aux microtubules (Figure 2C). Tous les éléments associés aux microtubules (bras, ponts et liens) sont disposés de façon périodique tout le long de l'axonème.

Chez l'homme, des malformations de tous les composants de l'axonème (Tableau I, Figures 3F-3L) ont été décrites : elles sont présentes de manière soit isolée, soit composite (plusieurs composants affectés) [7, 22, 23]. Par exemple, l'absence des bras internes de dynéine, qui est associée à une absence des liens de nexine et entraîne une perte de la structure cylindrique de l'axonème (Figure 3G), n'a été rapportée que de manière composite. Les bras de dynéine internes sont constitués de plusieurs sous-structures dont la composition protéique est hétérogène, et l'absence d'une seule de ces entités pourrait ne pas être discernable en microscopie électronique de routine.

L'absence des microtubules centraux (Figure 3I) se caractérise par un défaut de croissance axonémale plus ou moins prononcé. On observe

ainsi une absence de flagelles, des flagelles courts ou des flagelles très courts. Les trois phénotypes coexistent à des degrés divers dans un sperme et peuvent conduire à une asthénospermie totale. Par opposition à ce phénotype, l'existence de spermatozoïdes dont la longueur de l'axonème est excessive a été rapportée, mais chez un seul patient à ce jour [24].

L'absence des microtubules périphériques peut également être observée dans les spermatozoïdes pathologiques. L'absence des doublets 1, 2 et 9 (Figure 3L) constitue une anomalie constitutionnelle, alors que l'absence des doublets 4 à 7 correspond à une anomalie secondaire résultant du clivage de l'axonème (le plus souvent associé à un enroulement ou pliement flagellaire).

Malformations des structures périaxonémales

L'organisation longitudinale bien spécifique des fibres denses (inégalité de longueur) (Figure 2B) suggère qu'elles puissent avoir un rôle dans la flexibilité du flagelle nécessaire au déplacement du spermatozoïde [25]. La gaine fibreuse contient également des facteurs énergétiques [26].

On connaît deux types d'anomalies constitutives de l'assemblage de la gaine fibreuse (par opposition à l'immaturité de la gaine fibreuse et aux désordres de la gaine fibreuse qui sont secondaires à certaines anomalies axonémales). Les colonnes longitudinales sont normalement en contact avec les doublets axonémaux 3 et 8. Dans le premier cas, un positionnement aberrant d'une ou des deux colonnes longitudinales entraîne une asymétrie de la répartition de la gaine fibreuse le long du flagelle et est associé à une anomalie de la longueur des fibres denses (Figure 3M). Les spermatozoïdes perdent alors la capacité d'adopter une courbure ample et, bien qu'ils se déplacent à une vitesse normale, ils sont incapables de progresser dans les voies génitales femelles (en particulier dans le mucus cervical) [25]. Dans le second cas en revanche, les anneaux de la gaine fibreuse sont anormalement disposés longitudinalement, ce qui entraîne la rigidité et l'immobilité des flagelles (Figure 3N) [27].

Origine génétique des malformations du flagelle du spermatozoïde

Certaines malformations flagellaires sont retrouvées chez des hommes qui présentent également une malformation de l'axonème des cils au niveau respiratoire ou *primary ciliary dyskinesia* (PCD), et parfois même un *situs inversus* (syndrome de Kartagener) [28]. À ce jour, quatre gènes ont été identifiés dont les mutations sont responsables du même type d'anomalie

Figure 4. Mise en évidence par immunofluorescence et microscopie électronique de l'absence d'annulus.

A. Immunodétection de la protéine septine 4 sur des frottis de spermatozoïdes montrant l'absence de signal au niveau de l'annulus des spermatozoïdes d'un patient asthénozoospermique ainsi que la désorganisation de la pièce principale. Le noyau est coloré en bleu (DAPI) et le flagelle, la pièce intermédiaire comprenant les mitochondries, est coloré en rouge (*Mitotracker*). La septine 4 de l'annulus donne un marquage vert dans les spermatozoïdes contrôles (anticorps H-120, Santa Cruz). Des images identiques sont obtenues par immunodétection des protéines septine 7 ou TAT1/Slc26A8, suggérant l'absence de l'annulus. Images a et a' : spermatozoïdes d'un sujet fertile ; images b et b' : spermatozoïdes d'un patient infertile présentant une asthénozoospermie modérée. Les images a' et b' correspondent à l'agrandissement d'un champ des images a et b, respectivement. Barres d'échelle : a et b = 5 µm ; a' et b' = 2 µm. **B.** L'analyse en microscopie électronique confirme l'absence de l'annulus et révèle une désorganisation sévère de la pièce intermédiaire dans les spermatozoïdes du patient infertile (photographie de droite). Chez le patient, les mitochondries sont de taille irrégulière et ne sont pas alignées en comparaison de celles de l'individu fertile (photographie de gauche). Dans les spermatozoïdes du patient, il existe également une disjonction entre la pièce intermédiaire et la pièce principale se traduisant par une région du flagelle sans mitochondries, ni gaine fibreuse. 1 : pièce intermédiaire ; 2 : annulus ; 3 : pièce principale. Barres d'échelle = 0,2 µm.

axonémale au niveau des cils et du flagelle. Ainsi les mutations des gènes *CCDC39* (*coiled-coil domain containing 39*) et *CCDC40* [29, 30] induisent, respectivement, une absence des bras internes de dynéine et des liens de nexine. Les mutations des gènes *LRRC50* et *Ktu*, renommés respectivement *dynein*, *axonemal*, *assembly factor 1* (*DNAAF1*) et *DNAAF2*, induisent une absence des deux bras de dynéine [31, 32]. Les produits de ces gènes sont donc nécessaires à la formation de différents types d'axonème (flagelle du spermatozoïde, cils respiratoires et cil nodal), ce qui les classe dans la catégorie des gènes responsables de ciliopathies complexes. Il est probable que ce soit également le cas pour les gènes *DNA12* (*dynein intermediate chain 2 gene*) et *RSPH9* (*radial spoke head 9 homolog* [*Chlamydomonas*]) responsables de PCD chez des hommes souffrant également d'infertilité. Cependant, l'analyse ultrastructurale des flagelles de ces patients n'ayant pas été faite, il est pour l'instant impossible de l'affirmer.

Par opposition, les patients dont les spermatozoïdes sont dépourvus de microtubules centraux et des structures adjacentes (gaine centrale) ne présentent pas de problèmes respiratoires, ni de *situs*

inversus. Ceci suggère qu'il existe des gènes de l'axonème spécifiques du flagelle du spermatozoïde. Ce phénotype est souvent retrouvé chez les sujets d'une même fratrie et dans des cas de consanguinité, ce qui indique une origine génétique mais aucun gène n'a été identifié à ce jour.

L'absence de doublets axonémaux 1, 2 et 9 associée à une absence partielle des microtubules centraux est d'origine génétique, comme le suggère la présence d'une mutation à l'état hétérozygote du gène *SPAG16* (*sperm associated antigen 16*) chez deux frères et l'observation des mêmes anomalies chez les souris *Spag16^{-/-}* [33].

Un seul gène impliqué dans une anomalie d'une structure non axonémale est connu chez l'homme. Il s'agit du gène qui code pour la septine 12 normalement contenue dans l'annulus. Deux de ces mutations sont associées à des anomalies flagellaires assez comparables à celles de souris *knock out* pour *Septin 4* et *Tat1* [34].

Finalement, des modifications de séquence de plusieurs gènes ont été décrites, mais dont on ne sait pas si elles affectent réellement la fonction des produits de ces gènes. C'est le cas du gène *Tektin-t* pour lequel des mutations à l'état hétérozygote ont été mises en évidence chez un sujet dont 25 à 50 % des spermatozoïdes étaient mobiles et présentaient des malformations flagellaires hétérogènes n'affectant pas tous les spermatozoïdes [35]. Il en est aussi de même pour les mutations des gènes codant pour les dynéines DNAI1, DNAH5 et DNAH11 identifiées chez sept hommes présentant une asthénospermie partielle (dont un patient présentant 16 % de spermatozoïdes mobiles) et dont les spermatozoïdes ne présentaient aucune anomalie des bras de dynéine [36]. Ces résultats sont surprenants dans la mesure où les mutations de ces gènes de dynéine sont connues pour être associées à une PCD et une totale immobilité ciliaire chez l'homme.

Il est probable qu'une origine génétique pourrait concerner la majorité des malformations flagellaires que nous avons décrites dans cette revue pour une ou plusieurs des raisons suivantes : (1) elles affectent souvent des sujets d'une même fratrie et/ou ont une incidence familiale (cousins, oncles) ; (2) elles peuvent concerner des hommes issus de familles consanguines (Tableau 1) ; (3) leur incidence est élevée chez des hommes issus d'une même région géographique [37]. Finalement, des malformations flagellaires comparables ont pu être mises en évidence par inactivation génique chez la souris [38].

Lorsque dans un couple, l'homme présente des anomalies flagellaires associées à une asthénospermie ou dyskinésie majeure, seule la méthode de procréation médicale assistée appelée *intracytoplasmic sperm injection* (ICSI) peut permettre au couple de procréer (Tableau 1). Dans ces cas, le taux de réussite est de 25 à 50 % selon les études. Cet écart important peut s'expliquer par des différences notables dans les types d'anomalies flagellaires : le taux de réussite est plus élevé dans le cas d'anomalies des bras de dynéine que dans les autres types d'anomalies flagellaires [39].

Conclusion

Le répertoire des anomalies ultrastructurales flagellaires (nous n'avons évoqué que les phénotypes bien caractérisés) présentes dans les spermatozoïdes humains est particulièrement important comparé au répertoire des anomalies ultrastructurales identifiées dans les cellules somatiques. Cela peut s'expliquer par la position très stable des différents éléments flagellaires dans le spermatozoïde : de ce fait, même s'ils sont de taille très réduite comme les liens associés aux microtubules, l'absence de ces composants flagellaires est facilement et très précisément identifiable. L'existence de ces diverses anomalies soulève plusieurs questions quant aux mécanismes moléculaires et cellulaires, encore très peu connus, de la croissance flagellaire : quels facteurs régulent la succession des événements cellulaires au cours de la morphogenèse du flagelle ? Quel est le rôle des structures cellulaires transitoires (dérivés du corps chromatoïde, corps associé au centriole, fuseau) observées au cours de la croissance flagellaire (Figure 1A) ? ♦

SUMMARY

Morphological defects of sperm flagellum implicated in human male infertility

The assembly of sperm flagella involves specific components and processes that are still poorly defined. Several morphological defects of the different structures that compose the axoneme have been described and associated to human male infertility. These morphological defects can be classified in 15 main categories. Most of them have been associated to consanguinity and/or familial cases, suggesting their genetic origin. However, so far only few genes have been causally involved. ♦

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient le Dr Gérard Gacon (Institut Cochin, Inserm U1016, CNRS UMR 8104, université Paris Descartes) pour la lecture critique de ce manuscrit. Les travaux de recherche des auteurs présentés dans cette revue ont été financés par l'Inserm, le CNRS, l'université Paris Descartes, l'agence nationale de la recherche (ANR-07-JCJC-0099), le ministère de l'éducation nationale et de la recherche scientifique et la fondation pour la recherche médicale (FRM).

RÉFÉRENCES

1. Vincensini L, Blisnick T, Bastin P. 1001 model organisms to study cilia and flagella. *Biol Cell* 2011 ; 103 : 109-30.
2. Inaba K. Sperm flagella: comparative and phylogenetic perspectives of protein components. *Mol Hum Reprod* 2011 ; 17 : 524-38.
3. Holstein AF, Roosen-Runge EC. *Atlas of human spermatogenesis*. Berlin : Grosse, 1981.
4. Holstein AF, Roosen-Runge EC, Schirren C. *Illustrated pathology of human spermatogenesis*. Berlin : Grosse, 1988.
5. Barber CF, Heuser T, Carbajal-Gonzalez BJ, et al. Three-dimensional structure of the radial spokes reveals heterogeneity and interactions with dyneins in *Chlamydomonas* flagella. *Mol Biol Cell* 2012 ; 23 : 111-20.
6. Escalier D. The cytoplasmic matrix of the human spermatozoon: cross-filaments link the various cell components. *Biol Cell* 1984 ; 51 : 347-63.
7. Escalier D, David G. Pathology of the cytoskeleton of the human sperm flagellum: axonemal and peri-axonemal anomalies. *Biol Cell* 1984 ; 50 : 37-52.
8. Baccetti B, Burrini AG, Collodel G, et al. Morphogenesis of the decapitated and decaudated sperm defect in two brothers. *Gamete Res* 1989 ; 23 : 181-8.
9. Holstein AF, Schill WB, Breucker H. Dissociated centriole development as a cause of spermatid malformation in man. *J Reprod Fertil* 1986 ; 78 : 719-25.
10. Ross A, Christie S, Kerr MG. An electron microscope study of a tail abnormality in spermatozoa from a subfertile man. *J Reprod Fertil* 1971 ; 24 : 99-103.
11. Escalier D. Arrest of flagellum morphogenesis with fibrous sheath immaturity of human spermatozoa. *Andrologia* 2006 ; 38 : 54-60.
12. Kissel H, Georgescu MM, Larisch S, et al. The Sept4 septin locus is required for sperm terminal differentiation in mice. *Dev Cell* 2005 ; 8 : 353-64.
13. Ihara M, Kinoshita A, Yamada S, et al. Cortical organization by the septin cytoskeleton is essential for structural and mechanical integrity of mammalian spermatozoa. *Dev Cell* 2005 ; 8 : 343-52.
14. Touré A, Lhuillier P, Gossen JA, et al. The testis anion transporter 1 (Slc26a8) is required for sperm terminal differentiation and male fertility in the mouse. *Hum Mol Genet* 2007 ; 16 : 1783-93.

RÉFÉRENCES

15. Lhuillier P, Escalier D, Gacon G, Touré A. Un transporteur d'anions est essentiel à la mobilité des spermatozoïdes. *Med Sci (Paris)* 2008 ; 24 : 226-8.
16. Kwitny S, Klaus AV, Hunnicutt GR. The annulus of the mouse sperm tail is required to establish a membrane diffusion barrier that is engaged during the late steps of spermiogenesis. *Biol Reprod* 2010 ; 82 : 669-78.
17. Lhuillier P, Rode B, Escalier D, et al. Absence of annulus in human asthenozoospermia: case report. *Hum Reprod* 2009 ; 24 : 1296-303.
18. Lhuillier P, Escalier D, Gacon G, et al. Asthénozoospermie humaine et anomalies de l'annulus. *Med Sci (Paris)* 2010 ; 26 : 688-9.
19. Sugino Y, Ichioka K, Soda T, et al. Septins as diagnostic markers for a subset of human asthenozoospermia. *J Urol* 2008 ; 180 : 2706-9.
20. Ghossoub R, Molla-Herman A, Bastin P, Benmerah A. The ciliary pocket: a once-forgotten membrane domain at the base of cilia. *Biol Cell* 2011 ; 103 : 131-44.
21. Beise N, Trimble W. Septins at a glance. *J Cell Sci* 2011 ; 124 : 4141-6.
22. Afzelius BA, Eliasson R. Flagellar mutants in man: on the heterogeneity of the immotile-cilia syndrome. *J Ultrastruct Res* 1979 ; 69 : 43-52.
23. Baccetti B, Burrini AG, Pallini V, Renieri T. Human dynein and sperm pathology. *J Cell Biol* 1981 ; 88 : 102-7.
24. Collodel G, Federico MG, Pascarelli NA, et al. A case of severe asthenozoospermia: a novel sperm tail defect of possible genetic origin identified by electron microscopy and immunocytochemistry. *Fertil Steril* 2011 ; 95 : 289.e11-6.
25. Escalier D, Serres C. Aberrant distribution of the peri-axonemal structures in the human spermatozoon: possible role of the axoneme in the spatial organization of the flagellar components. *Biol Cell* 1985 ; 53 : 239-50.
26. Eddy EM, Toshimori K, O'Brien DA. Fibrous sheath of mammalian spermatozoa. *Microsc Res Tech* 2003 ; 61 : 103-15.
27. Escalier D, Albert M. New fibrous sheath anomaly in spermatozoa of men with consanguinity. *Fertil Steril* 2006 ; 86 : 219 : e1-9.
28. Afzelius BA. Cilia-related diseases. *J Pathol* 2004 ; 204 : 470-7.
29. Becker-Heck A, Zohn IE, Okabe N, et al. The coiled-coil domain containing protein CCDC40 is essential for motile cilia function and left-right axis formation. *Nat Genet* 2011 ; 43 : 79-84.
30. Merveille AC, Davis EE, Becker-Heck A, et al. CCDC39 is required for assembly of inner dynein arms and the dynein regulatory complex and for normal ciliary motility in humans and dogs. *Nat Genet* 2011 ; 43 : 72-8.
31. Duquesnoy P, Escudier E, Vincensini L, et al. Loss-of-function mutations in the human ortholog of *Chlamydomonas reinhardtii* ODA7 disrupt dynein arm assembly and cause primary ciliary dyskinesia. *Am J Hum Genet* 2009 ; 85 : 890-6.
32. Omran H, Kobayashi D, Olbrich H, et al. Ktu/PF13 is required for cytoplasmic pre-assembly of axonemal dyneins. *Nature* 2008 ; 456 : 611-6.
33. Zhang Z, Zariwala MA, Mahadevan MM, et al. A heterozygous mutation disrupting the SPAG16 gene results in biochemical instability of central apparatus components of the human sperm axoneme. *Biol Reprod* 2007 ; 77 : 864-71.
34. Kuo YC, Lin YH, Chen HI, et al. SEPT12 mutations cause male infertility with defective sperm annulus. *Hum Mutat* 2012 ; 33 : 710-9.
35. Zuccarello D, Ferlin A, Garolla A, et al. A possible association of a human tektin-t gene mutation (A229V) with isolated non-syndromic asthenozoospermia: case report. *Hum Reprod* 2008 ; 23 : 996-1001.
36. Zuccarello D, Ferlin A, Cazzadore C, et al. Mutations in dynein genes in patients affected by isolated non-syndromic asthenozoospermia. *Hum Reprod* 2008 ; 23 : 1957-62.
37. Baccetti B, Capitani S, Collodel G, et al. Genetic sperm defects and consanguinity. *Hum Reprod* 2001 ; 16 : 1365-71.
38. Escalier D. Knockout mouse models of sperm flagellum anomalies. *Hum Reprod Update* 2006 ; 12 : 449-61.
39. Mitchell V, Rives N, Albert M, et al. Outcome of ICSI with ejaculated spermatozoa in a series of men with distinct ultrastructural flagellar abnormalities. *Hum Reprod* 2006 ; 21 : 2065-74.
40. Toure A, Rode B, Hunnicutt GR, Escalier D, Gacon G. Septins at the annulus of mammalian sperm. *Biol Chem* 2011 ; 392 : 799-803.

TIRÉS À PART

A. Touré

dépasser les frontières

[Le CNRS](#) | [Annuaire](#) | [Mots-Clefs CNRS](#) | [Autres sites](#)

CNRS Formation Entreprises

du 10 au 21 septembre 2012 à MARSEILLE (13)

Connaissance de l'animal de laboratoire : méthodologie expérimentale.
Programme de base niveau I

du 17 au 21 septembre 2012 à CLERMONT FERRAND (63)

Formation de la Personne Compétente en Radioprotection (PCR)
Module théorique - Secteurs Industrie / recherche ou Médical

du 20 septembre au 8 novembre 2012 à GIF-SUR-YVETTE (91)

RMN des macromolécules biologiques
(7 jeudis pendant la période indiquée)

du 24 au 26 septembre 2012 à PARIS (75)

Analyse bioinformatique des séquences nucléiques et protéiques

du 8 au 12 octobre 2012 à TOULOUSE (31)

La microscopie de fluorescence : bases et nouveautés

du 15 au 19 octobre 2012 à GIF SUR YVETTE (91)

Atelier de microscopie confocale

du 19 au 22 novembre 2012 à STRASBOURG CEDEX (67)

La tomographie électronique : théorie et pratique

Centre de ressources en formation
Un besoin de formation particulier ?
N'hésitez pas à nous consulter

Catalogue, programmes et inscriptions : 01 69 82 44 55 - <http://cnrsformation.cnrs-gif.fr>