

Bayley modifiée [6]. Peut-être le travail aurait-il été plus complet si une cohorte d'enfants nés de conception naturelle avait été prise en compte dans l'étude.

Des résultats actuels rassurants

En conclusion, et en se limitant à l'ICSI avec spermatozoïdes épидидymaires, bien que cette technique ait été adoptée d'emblée sans respecter « le principe de précaution », les résultats actuels semblent rassurants sur l'avenir du million d'enfants nés par ICSI dans le monde [7, 8]. ♦

Follow-up of the children born by ICSI

REMERCIEMENTS

À Pierre Jouannet et à Stéphane Viville pour leur relecture du manuscrit.

CONFLIT D'INTÉRÊTS

L'auteur déclare n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Olivennes F, Fanchin R, Righini C, et al. La fécondation *in vitro* : aujourd'hui et demain. *Med Sci (Paris)* 2000 ; 16 : 316-23.
2. Guenedal ML, Falquet C, Warter S, et al. Les risques liés à l'injection intracytoplasmique du spermatozoïde (ICSI). *Med Sci (Paris)* 2001 ; 17 : 44-53.

3. Buffat C, Patrat C, Merlet F, et al. CSI outcomes in obstructive azoospermia: influence of the origin of surgically retrieved spermatozoa and the cause of obstruction. *Hum Reprod* 2006 ; 21 : 1018-24.
4. Belva F, De Schrijver F, Tournaye H, et al. Neonatal outcome of 724 children born after ICSI using non-ejaculated sperm. *Hum Reprod* 2011 ; 26 : 1752-8.
5. Woldrinfh GH, Horvers M, Janssen AJ, et al. Follow-up of children born after ICSI with epididymal spermatozoa. *Hum Reprod* 2011 ; 26 : 1759-67.
6. Van der Meulen BF, Ruiters SAJ, Lutje HC, et al. *Bayley scales of infant development*, 2nd ed. Nederlandse versie, Swets Test Publishers, 2002.
7. Jouannet P. L'assistance médicale à la procréation : enjeux et mutations. *BEH* 2011 ; 23-24 : 261-2.
8. Thépot F. Assistance médicale à la procréation : état des pratiques en France. *BEH* 2011 ; 23-24 : 263-83.

NOUVELLE

Le chimiotactisme du spermatozoïde est régulé par la fixation de la progestérone sur le canal calcique CATSPER

Christophe Arnoult, Virginie Pierre, Pierre F. Ray

Équipe génétique, infertilité et thérapeutique, Laboratoire AGIM, CNRS FRE3405, Université Joseph Fourier de Grenoble, domaine de la Merci, Faculté de médecine, bâtiment Jean Roget, 38700 La Tronche, France.
christophe-arnoult@ujf-grenoble.fr

> Deux études parues en mars 2011 dans la revue *Nature* ont réussi à démontrer que le canal CATSPER (*cation channel sperm-associated protein*) était directement activé par la progestérone [1, 2]. Le canal CATSPER est un canal calcique essentiel à la mobilité du spermatozoïde [3]. Sa structure est similaire à celle des canaux potassiques et forme un pore constitué de quatre sous-unités différentes (CATSPER 1-4), chacune comportant six segments transmembranaires [4]. Au moins deux sous-unités accessoires (CATSPER β et γ) sont liées à ce canal et sont nécessaires à son fonctionnement [5, 6]. Ce canal est dépendant du voltage et est fortement activé par une alcalinisation intracellulaire [7]. Il est localisé dans la pièce principale du flagelle

du spermatozoïde et est responsable de l'hyperactivation nécessaire à la traversée de la couche protectrice de l'ovocyte appelée zone pellucide (ZP). Des souris déficientes (*knock out*) pour n'importe quelle sous-unité du canal CATSPER sont totalement stériles, car leurs spermatozoïdes sont incapables de traverser la ZP. Grâce à la technique du *patch clamp*, les courants ioniques traversant la membrane plasmique du spermatozoïde peuvent être mesurés, et plus particulièrement les courants portés par l'ouverture du canal CATSPER [7]. L'ouverture du canal CATSPER peut également être objectivée par la mesure de la concentration du calcium (Ca^{2+}) interne par l'intermédiaire de sondes fluorescentes spécifiques au Ca^{2+} .

Amplification par la progestérone du courant produit par CATSPER

Les auteurs de ces deux publications ont utilisé le *patch clamp* et la mesure de $[\text{Ca}^{2+}]$ pour mesurer, soit le courant calcique, soit les variations du $[\text{Ca}^{2+}]$ intracellulaire dans le spermatozoïde en présence de progestérone. Ils ont ainsi montré que le courant généré par le canal CATSPER est amplifié en réponse à l'exposition à la progestérone. Cet effet est décuplé en présence d'un pH alcalin. Le courant CATSPER initial et le courant activé par la progestérone sont inhibés par le même antagoniste calcique, NNC55-0396 (ou NCC), inhibiteur des canaux calciques voltage-dépendants de type T. Le canal est très sensible à la progestérone car il réagit à des concentrations de progestérone très faibles



de l'ordre de 100 pM, le maximum de potentialisation étant atteint pour des concentrations de l'ordre 100 nM. La mesure des variations de Ca^{2+} a permis de montrer que la réponse à la progestérone est constituée de deux phases : un pic transitoire de Ca^{2+} suivi par une augmentation lente. La rapidité de la réponse à la progestérone – l'augmentation du Ca^{2+} intracellulaire est instantanée après l'introduction de la progestérone – est en faveur d'une action directe de cette hormone sur le complexe moléculaire CATSPER. Cette hypothèse est renforcée par le fait que le RU486, un antagoniste du récepteur nucléaire de la progestérone, ne modifie pas la potentialisation du courant par l'hormone. De plus, les auteurs ont modifié la progestérone afin qu'elle ne puisse plus pénétrer dans la cellule et ont montré que la potentialisation du courant CATSPER n'est pas altérée par cette modification, démontrant *in fine* la localisation membranaire du récepteur à la progestérone dans le spermatozoïde. Finalement, ils ont aussi montré une différence de réponse entre les spermatozoïdes selon qu'ils ont ou non subi l'étape de capacitation¹. L'augmentation du Ca^{2+} est plus faible en amplitude et moins prolongée dans les spermatozoïdes qui n'ont pas subi cette étape. De plus, la capacitation rend les spermatozoïdes sensibles à des concentrations plus faibles de progestérone. Ces résultats montrent que le spermatozoïde devient particulièrement sensible à la progestérone quand il parvient dans les trompes de Fallope, c'est-à-dire à proximité des ovocytes.

Progestérone et chimiotactisme du spermatozoïde

Une étude antérieure avait montré que la progestérone, produite par les cellu-

les folliculaires qui entourent l'ovocyte, induit une entrée de Ca^{2+} dans le spermatozoïde qui entraîne la modification des battements du flagelle [8] et serait impliquée dans des mécanismes de chimiotactisme [9, 10]. Le chimiotactisme permet à une cellule ou un animal de se guider vers sa cible en suivant un gradient de facteurs chimiques appelés chimioattractants et relâchés par la cible elle-même. À faibles concentrations, de l'ordre de 1 à 100 pM, la progestérone induit un chimiotactisme tandis que pour des concentrations supérieures à 10 μM le chimiotactisme disparaît. Seuls les spermatozoïdes qui ont acquis la capacitation sont sensibles à ce chimioattractant.

Le chimiotactisme du spermatozoïde vers l'ovocyte a été démontré pour la première fois chez l'oursin en 1960. Le chimiotactisme a un sens chez l'oursin, puisque la probabilité de rencontre des gamètes mâles et femelles libérés simultanément dans l'océan est très faible. En revanche, on a longtemps pensé que ce type de mécanisme n'existait pas chez les mammifères chez lesquels la fécondation est interne. Les preuves de la présence d'un chimioattractant dans le liquide folliculaire chez les mammifères seront apportées en 1990, mais l'identité de ce dernier restait inconnue [11]. Les chimioattractants sont produits par les cellules du cumulus qui entourent l'ovocyte ou par l'ovocyte lui-même [12] mais ne se limitent pas à la progestérone décrite ici. De plus, seuls les spermatozoïdes pour lesquels la capacitation a eu lieu sont sensibles aux chimioattractants [13]. Plusieurs voies de signalisation ont été décrites comme participant au chimiotactisme du spermatozoïde chez les mammifères. La présence de récepteurs olfactifs sur le spermatozoïde a été démontrée et leur activation par des molécules odorantes comme le « bourgeonal » est capable de modifier la trajectoire des spermatozoïdes [14]. La voie de signalisation en aval du récepteur active classiquement une protéine G, puis l'adényl-cyclase

transmembranaire. Cette dernière induit une augmentation de la concentration d'AMPc intracellulaire responsable de l'augmentation du Ca^{2+} cytoplasmique, qui à son tour modifie la direction du spermatozoïde. Les spermatozoïdes humains sont en outre thermosensibles et un gradient de température de 0,5 °C peut changer leur direction. Le canal calcique TRPM8 (*transient receptor potential M8* [15]) est responsable de ce « thermotactisme » du spermatozoïde [16] et là encore, seuls les spermatozoïdes capités y sont sensibles. Ce thermotactisme joue probablement un rôle important *in vivo* puisqu'il existe un gradient de température le long de l'appareil génital femelle qui s'accroît en période d'ovulation [17].

Le canal CATSPER : un récepteur non nucléaire de la progestérone

Depuis ces vingt dernières années, la question de l'identité des chimioattractants responsables du chimiotactisme du spermatozoïde et des voies de signalisation activées par ces molécules est au cœur des débats. La progression du spermatozoïde dans les voies génitales femelles chez les mammifères semble faire intervenir plusieurs étapes impliquant différents chimioattractants ainsi que le thermotactisme. Il est à noter que chez la souris, CATSPER n'est pas potentialisé par la progestérone, ce qui indique l'existence de différentes stratégies de chimiotactisme selon les espèces. Les travaux présentés dans *Nature* [1, 2] permettent donc une meilleure compréhension du chimiotactisme induit par la progestérone et montrent que cette hormone se fixe directement sur le complexe moléculaire du canal CATSPER au niveau de la membrane plasmique et potentialise le courant calcique lié au canal. Ceci est un exemple remarquable des fonctions non nucléaires de certaines hormones stéroïdiennes ne faisant pas intervenir leurs récepteurs nucléaires habituels. ♦

Chemotaxis of spermatozoa is regulated by progesterone binding on calcium channel CATSPER

¹ La capacitation est accomplie par les spermatozoïdes durant l'ascension du tractus génital (en contact avec les sécrétions de celui-ci). Il s'agit d'un processus de maturation physiologique de la membrane des spermatozoïdes ; c'est une condition préalable à l'étape suivante, la réaction acrosomique.

CONFLIT D'INTÉRÊTS

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

RÉFÉRENCES

1. Lishko PV, Botchkina IL, Kirichok Y. Progesterone activates the principal Ca²⁺ channel of human sperm. *Nature* 2011 ; 471 : 387-91.
2. Strünker T, Goodwin N, Brenker C, et al. The CatSper channel mediates progesterone-induced Ca²⁺ influx in human sperm. *Nature* 2011 ; 471 : 382-6.
3. Ren D, Navarro B, Perez G, et al. A sperm ion channel required for sperm motility and male fertility. *Nature* 2001 ; 413 : 603-9.
4. Qi H, Moran MM, Navarro B, et al. All four CatSper ion channel proteins are required for male fertility and sperm cell hyperactivated motility. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007 ; 104 : 1219-23.
5. Wang H, Liu J, Cho KH, Ren D. A novel, single, transmembrane protein CATSPERG is associated with CATSPER1 channel protein. *Biol Reprod* 2009 ; 81 : 539-44.
6. Chung JJ, Navarro B, Krapivinsky G, et al. A novel gene required for male fertility and functional CATSPER channel formation in spermatozoa. *Nat Commun* 2011 ; 2 : 153.
7. Kirichok Y, Navarro B, Clapham DE. Whole-cell patch-clamp measurements of spermatozoa reveal an alkaline-activated Ca²⁺ channel. *Nature* 2006 ; 439 : 737-40.
8. Publicover SJ, Goyalas LC, Teves ME, et al. Ca²⁺ signalling in the control of motility and guidance in mammalian sperm. *Front Biosci* 2008 ; 13 : 5623-37.
9. Teves ME, Barbano F, Guidobaldi HA, et al. Progesterone at the picomolar range is a chemoattractant for mammalian spermatozoa. *Fertil Steril* 2006 ; 86 : 745-9.
10. Guidobaldi HA, Teves ME, Unates DR, et al. Progesterone from the cumulus cells is the sperm chemoattractant secreted by the rabbit oocyte cumulus complex. *PLoS One* 2008 ; 3 : e3040.
11. Villanueva-Diaz C, Vadillo-Ortega F, Kably-Ambe A, et al. Evidence that human follicular fluid contains a chemoattractant for spermatozoa. *Fertil Steril* 1990 ; 54 : 1180-2.
12. Cohen-Dayag A, Tur-Kaspa I, Dor J, et al. Sperm capacitation in humans is transient and correlates with chemotactic responsiveness to follicular factors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995 ; 92 : 11039-43.
13. Eisenbach, M. Mammalian sperm chemotaxis and its association with capacitation. *Dev Genet* 1999 ; 25 : 87-94.
14. Spehr M, Gisselmann G, Poplawski A, et al. Identification of a testicular odorant receptor mediating human sperm chemotaxis. *Science* 2003 ; 299 : 2054-8.
15. Vassort G, Fauconnier J. Les canaux TRP (transient receptor potential). Une nouvelle famille de canaux à expression variée. *Med Sci (Paris)* 2008 ; 24 : 163-8.
16. De Blas GA, Darszon A, Ocampo AY, et al. TRPM8, a versatile channel in human sperm. *PLoS One* 2009 ; 4 : e6095.
17. Bahat A, Tur-Kaspa I, Gakamsky A, et al. Thermotaxis of mammalian sperm cells : a potential navigation mechanism in the female genital tract. *Nat Med* 2003 ; 9 : 149-50.

NOUVELLE

miR-122, un microARN « à tout fer »

Sophie Vaulont

Inserm U1016, CNRS UMR 8104,
Université Paris Descartes,
Institut Cochin,
24, rue du Faubourg Saint-Jacques,
75014 Paris, France.
sophie.vaulont@inserm.fr

> Les microARN (miARN) constituent une classe abondante de petits ARN non codants qui régulent l'expression des gènes à un niveau post-transcriptionnel et dont l'implication dans de nombreux processus biologiques fondamentaux - développement, différenciation et métabolisme - est désormais reconnue. Les miARN matures interagissent avec les régions 3' non traduites (3'-UTR) des ARNm qu'ils contrôlent, provoquant ainsi soit leur dégradation, soit l'inhibition de leur traduction. Chaque miARN pouvant contrôler en moyenne 200 gènes [1], des calculs théoriques ont estimé que les miARN réguleraient jusqu'à 50 % de l'ensemble des gènes.

Le miARN-122 (miR-122) est spécifique du foie et très abondant, puisqu'il représente environ 70 % de l'ensemble des miARN dans ce tissu [2]. De nombreuses études suggèrent aujourd'hui

que l'expression régulée de miR-122 est importante pour le maintien des fonctions hépatiques.

Ainsi, le blocage de miR-122 hépatique conduit-il à la diminution des taux de cholestérol plasmatique et de triglycérides chez les rongeurs et les primates. En outre, les souris chez lesquelles miR-122 a été inhibé sont résistantes au développement de la stéatose hépatique induite par un régime gras. Chez l'homme, l'expression de miR-122 est réprimée dans la cirrhose et le cancer hépatocellulaire. Par ailleurs, de nombreuses études ont montré que miR-122 est crucial pour l'infection par le virus de l'hépatite C (VHC), la répllication du virus et la réponse au traitement par l'interféron. Enfin, il existe un lien fonctionnel entre miR-122 et les rythmes circadiens, la transcription de miR-122 étant elle-même sous contrôle

circadien [3]. miR-122 apparaît donc comme un élément crucial du réseau de régulation de l'expression des gènes hépatiques et pourrait être nécessaire à la synchronisation des gènes à l'interface entre plusieurs voies métaboliques (revue [4]).

Contrôle de l'homéostasie du fer par l'hepcidine

Dans les premières études d'extinction de miR-122 *in vivo* utilisant des oligonucléotides anti-miR-122 (antagomir), Castoldi et al. [5] ont observé une augmentation des niveaux d'ARNm codant pour des activateurs de l'hormone du fer, l'hepcidine, suggérant à ces auteurs une implication de miR-122 dans le métabolisme du fer.

Le fer est vital pour les cellules. Il est en outre indispensable à la respiration, puisqu'il permet la fixation de