

L'acrosome : Développement et comparaison entre espèces, apport d'un cas familial de globozoospermie

Isabelle Koscinski^{1,2}, Anne Sophie Jaeger², Céline Moutou¹ et Stéphane Viville^{1,2}

¹ Laboratoire de Biologie de la Reproduction, S.I.H.C.U.S.- C.M.C.O., 19 rue Louis Pasteur, 67303 Schiltigheim Cedex, France

² Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, 1 rue Laurent Fries, BP10142, 67404 Illkirch, France

Auteur correspondant : Isabelle Koscinski, isabelle.koscinski@chru-strasbourg.fr

Reçu le 6 septembre 2007

Résumé – L'acrosome spermatique est connu pour son rôle dans la fécondation dans la grande majorité des espèces animales étudiées. On peut estimer l'apparition de l'acrosome, contemporaine de l'avènement d'une fécondation hors du milieu aquatique. La composition chimique de l'acrosome ainsi que son mode d'excrétion pourraient le faire considérer comme un simple lysosome. Cela serait nier son important rôle morphogénique dans la spermiogenèse. En effet, son développement est étroitement lié à celui de la manchette et de son système microtubulaire. Grâce aux récentes données de mutagenèse animale, la biogenèse de l'acrosome dévoile pas à pas ses mécanismes. La globozoospermie, tératozoospermie humaine rare mais cause d'infertilité sévère, est caractérisée par des têtes spermatiques globuleuses, dépourvues d'acrosome. Elle est l'illustration d'un défaut de biogenèse acrosomiale. Récemment, l'étude génétique d'une famille présentant des frères globozoospermiques et des frères fertiles a permis la mise en évidence d'une mutation du gène *SPATA16* responsable à l'état homozygote du phénotype de globozoospermie. Cette étude ajoute une protéine à la liste de celles impliquées dans la formation de l'acrosome humain.

Mots clés : Acrosome / globozoospermie / manchette / spermiogenèse

Abstract – The acrosome: comparative morphology and development, contribution of a human familial globozoospermia case report.

Sperm acrosome is known to play a role in the fertilization of the majority of animal species studied. As a general rule, the acrosome appeared as soon as the fertilization occurred out of aqueous phase. The biochemical content of acrosome as well as its release mode could suggest it is a simple lysosome. But this would by pass its important morphogenic role in spermiogenesis. Its development is strongly linked to the development of the microtubules manchette system.

Molecular data of animal mutagenesis contribute to the understanding of acrosome biogenesis mechanisms.

Globozoospermia is a rare but severe human teratozoospermia, characterized by ejaculates entirely consisting of round-headed spermatozoa that lack an acrosome. It originates from a disturbed acrosome biogenesis. Recently, the genetic study of a familial globozoospermia led to highlight a homozygote mutation of the gene *SPATA16*, linked to the globozoospermic phenotype. This study contributes to the understanding of the mechanisms implied in human acrosome formation.

Key words: Acrosome / globozoospermia / manchette / spermiogenesis

Introduction

La spermatogenèse est un processus complexe correspondant à la formation des gamètes mâles ou spermatozoïdes à partir des cellules germinales primitives. Les dernières étapes correspondant à la maturation des cellules germinales haploïdes immatures (ou spermatides) en spermatozoïdes sont regroupées sous le terme de spermiogenèse (Holstein *et al.*, 1988) (Figure 1) dont un élément important est la formation d'un organite cellulaire coiffant l'extrémité antérieure du spermatozoïde ou **acrosome**. Le rôle de ce dernier est essentiel dans la fécondation. En effet, la libération des enzymes qu'il contient permet au spermatozoïde de traverser les enveloppes de l'ovocyte. Chez l'homme, son absence est associée avec une forme rare mais sévère d'infertilité : la globozoospermie. Ces deux dernières décennies, un intérêt particulier a été porté à l'acrosome.

La présente revue propose une description comparative de l'acrosome dans l'évolution des espèces et aborde les relations structure-fonctions de cet organe. Ensuite, les mécanismes moléculaires de formation de l'acrosome seront rapportés à la lumière de récents apports de mutagenèse animale et un exemple de pathologie humaine.

Description comparative de l'acrosome

La **morphologie spermatique** est très variée au sein des espèces (Anderson *et al.*, 1975), reflet de 10^8 années d'évolution menant à une adaptation aux basses concentrations en oxygène, une mobilité permettant d'atteindre l'œuf, une aptitude à traverser les barrières protectrices entourant l'ovocyte, une complémentarité antigénique avec la membrane plasmique ovocytaire et enfin le dépôt de son matériel génétique dans l'ovocyte et l'activation du développement zygotique. La morphologie spermatique semble étroitement liée au type de fécondation de l'espèce. Ainsi distingue-t-on un type primitif de spermatozoïdes et plusieurs types modifiés. Le type primitif est rencontré dans les espèces aquatiques avec une fécondation externe (Franzen, 1970) : la tête spermatique est ronde, il n'y a pas d'acrosome, l'appareil locomoteur est vigoureux. Les types modifiés correspondent à une large modification de la tête et/ou de la pièce intermédiaire (comme on l'observe chez la salamandre) ou encore à une déviation complète du prototype comme chez le *Procambarus* où la tête est entourée de six importants prolongements cytoplasmiques (Anderson *et al.*, 1975).

Les spermatozoïdes de type dit « primitif » ont une structure bien adaptée pour évoluer dans l'eau sur de courtes distances et la fécondation doit avoir lieu très

rapidement après le largage des spermatozoïdes : en effet, le milieu aqueux (eau douce ou salée) ne contenant pas de nutriment, la survie des spermatozoïdes dépend entièrement des réserves intracellulaires utilisables pour la production d'énergie (Anderson & Person, 1973).

La transition du type primitif de spermatozoïde au type modifié avec acrosome correspond au passage à une fécondation interne, mais il n'existe pas de logique évidente à la différentiation en un type modifié plutôt qu'en un autre si ce n'est l'imparable complémentarité avec le gamète femelle (Afzelius, 1982). Même si la taille et la forme des spermatozoïdes sont classiquement considérées comme de bons indicateurs phylogénétiques, la morphologie de l'acrosome spermatique ne semble pas liée uniquement à l'évolution phylogénétique : ainsi n'observe-t-on pas d'acrosome chez les méduses ou les poissons téléostéens, alors qu'on en observe chez les oursins : l'acrosome est alors réduit à sa plus élémentaire expression de simple granule d'excrétion (Anderson *et al.*, 1975). Dans la plupart des espèces, il s'agit d'un large sac enzymatique recouvrant la partie antérieure du noyau. Ce sac présente parfois une taille gigantesque comme chez le pseudoscorpion *Geogarypus* ou encore une compartimentation particulière comme chez le lombric (Anderson *et al.*, 1975).

L'acrosome de mammifère contient des produits sécrétés semblables à ceux retrouvés dans divers lysosomes (Moreno *et al.*, 2006) : protéinases, hyaluronidase, sulfatase, phosphatase acide, DNase, RNase, mais également des molécules spécifiques comme HSA-63, la pro-acrosine, la pro-enképhaline, FA-2, SP-10, ZRK, PH-20, Acrin1 (Oh-Oka *et al.*, 2001). L'assimilation de l'acrosome à un lysosome spécialisé est contrariée par la lenteur de sa biogenèse, comparée à la durée de formation des lysosomes en général. Reprenant d'anciennes observations, des études récentes ont mis en évidence un lien entre la biogenèse de l'acrosome et la forme de la tête des spermatides, en particulier la relation entre l'absence d'acrosome et la forme globuleuse de la tête spermatique. En effet, la biogenèse de l'acrosome est étroitement liée à celle de la manchette, élément clé de l'élongation spermatidique (Kierszenbaum *et al.*, 2004).

La biogenèse de l'acrosome

Moreno *et al.* (2000) distinguent quatre phases dans la biogenèse de l'acrosome : la phase Golgi, la phase de la coiffe, la phase de l'acrosome et enfin la phase de maturation de cet acrosome. Lors de la **phase Golgi**, des vésicules golgiennes (surtout du cis-Golgi) pro-acrosomiales se fixent à l'enveloppe nucléaire et confluent en un sac aplati recouvrant la partie

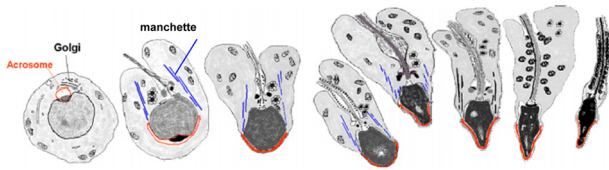


Fig. 1. Étapes de la spermiogenèse humaine : allongement de la spermatide, formation de l'acrosome, condensation de la chromatine (d'après Holstein *et al.*, 1988).

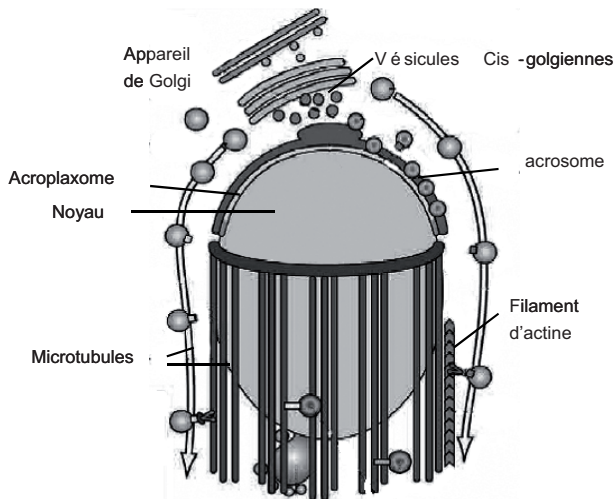


Fig. 2. Formation de l'acrosome : Phase Golgi (d'après Kierszenbaum *et al.*, 2004) les vésicules cis-golgiennes rejoignent l'acroplaxome à la partie antérieure de la surface périnucléaire, où elles confluent entre elles formant l'acrosome. Le transport des vésicules pro-acrosomiales est assuré par des microtubules. Des filaments d'actine semblent impliqués dans le transport des vésicules se déplaçant vers la manchette.

antérieure de la membrane nucléaire (Figure 2). Lors de la **phase de la coiffe**, l'augmentation de volume du sac est la conséquence de la fusion de nouvelles vésicules cis-golgiennes. Parallèlement à cette formation du sac acrosomial, des vésicules non-acrosomiales se détachent du Golgi (en trans Golgi) et sont acheminées au pôle postérieur de la tête spermatique (Figure 2). À la **phase de l'acrosome**, le sac acrosomial s'aplatit et diffuse jusqu'aux 2/3 antérieurs du noyau. À la **phase de maturation**, la forme de l'acrosome change peu, les modifications sont essentiellement fonctionnelles correspondant à une augmentation du pouvoir fécondant des spermatozoïdes. Aux phases acrosome et maturation, l'appareil de Golgi migre au pôle opposé de la cellule et sera éliminé dans la gouttelette cytoplasmique avec la plupart des autres organites. Toutes ces vésicules sont acheminées par des microtubules (Kierszenbaum *et al.*, 2004).

Le sac acrosomial est fixé à la surface nucléaire au niveau de l'acroplaxome délimité à sa par-

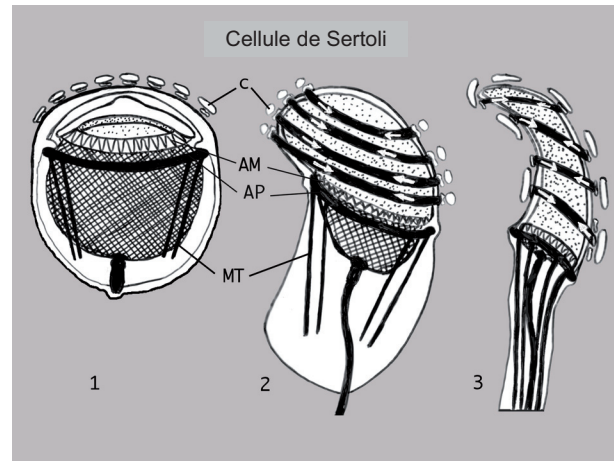


Fig. 3. Morphogenèse de la tête spermatidique : 1-2-3 : étapes successives de l'allongement de la tête spermatidique, de la spermatide ronde (1) à la spermatide allongée (3). L'allongement de la tête spermatidique est la conséquence de l'étranglement de la tête dû au rétrécissement des boucles d'actine (\Rightarrow), sous contrôle de la cellule de Sertoli. Ces boucles d'actine sont en liaison avec les citernes calciques (C) de la cellule de Sertoli. Parallèlement, le rétrécissement de l'anneau péri-nucléaire (AP) et son déplacement vers l'arrière sous l'effet de traction des microtubules (MT) accentuent cet allongement. AM = anneau marginal à la partie postérieure de l'acroplaxome. (D'après Kierszenbaum *et al.*, 2004).

tie postérieure par un anneau dit « marginal » (Kierszenbaum *et al.*, 2004). Cet acroplaxome contient des fibres d'actine. Des fibres d'actine sont également retrouvées en cercles parallèles concentriques autour du noyau. Ces fibres sont liées à la cellule de Sertoli par des protéines spermatosertoliennes transmembranaires. Un effet constrictif progressif du noyau est obtenu par réduction de la longueur des boucles d'actine. Cet effet est probablement sous le contrôle de la cellule de Sertoli, par le biais des protéines spermatosertoliennes transmembranaires (Figure 3).

La formation de la manchette (Courtens *et al.*, 1982, Figure 1) est contemporaine de celle de l'acrosome. Cette structure a été décrite comme composant des spermatides dans de nombreuses espèces. Elle a été observée à proximité du noyau en voie d'élongation. Elle apparaît juste avant et disparaît juste après la morphogenèse du noyau spermatique chez les insectes, les oiseaux et les mammifères. Les microtubules qui la composent sont assemblés en tubes disposés de façon concentrique, connectés les uns aux autres et stabilisés par des liens inter-microtubules. Les fibres de microtubules sont amarrées à un anneau péri-nucléaire au tiers postérieur du noyau (Figure 3). Des fibres d'actine ont

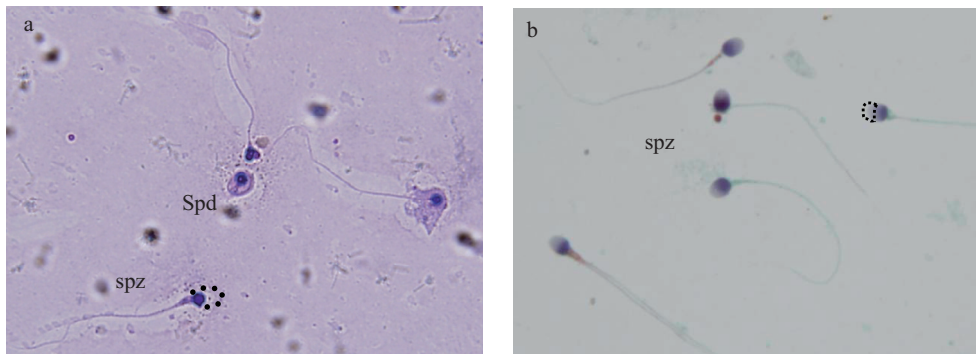


Fig. 4. Morphologie des spermatozoïdes dans la globozoospermie : spermatozoïdes (spz) et spermatides (spd) sans acrosome (a,.....) et spermatozoïdes avec acrosome (b,.....)

été mises en évidence le long de cette formation tubulaire (Kierszenbaum *et al.*, 2004).

L'élongation de la cellule est accentuée par une diminution progressive de la taille des anneaux marginal et péri-nucléaire qui aboutit à un étranglement / allongement de la tête.

On opposera à cette théorie morphogénétique de la manchette l'observation, chez l'hydre et chez de nombreux crustacés, de la morphogénèse nucléaire spermatidique en l'absence de manchette typique. Chez le squal et la raie, les microtubules sont remplacés par des microfilaments, alors qu'il n'y a ni microtubule, ni microfilament chez la plupart des téléostéens (Courtens *et al.*, 1982).

Apports de la mutagenèse animale et de la pathologie humaine aux mécanismes moléculaires de biogenèse de l'acrosome

Les données d'observation sont progressivement complétées par des données moléculaires permettant d'expliquer en partie certaines phases de la biogenèse de l'acrosome.

Concernant les phases initiales de la biogenèse de l'acrosome, notamment la fusion des vésicules proacrosomiales, la mutagenèse animale est informative : les souris mutantes *Hrb*^{-/-} (Kang-Decker *et al.*, 2001) ou *GOPC*^{-/-} (Yao *et al.*, 2002) présentent un phénotype caractéristique : une tête ronde dépourvue d'acrosome. Dans le premier cas, les vésicules pro-acrosomiales fusionnent en un sac aplati, fréquemment perdu au cours de la spermiogénèse; dans le second cas elles ne fusionnent pas du tout. Ceci suggère pour *Hrb* un rôle dans la fixation des vésicules proacrosomiales à la surface nucléaire, tandis que *GOPC* serait essentielle dans la confluence des vésicules proacrosomiales entre elles.

Concernant le mécanisme d'allongement de la tête spermatique aboutissant à sa forme si caractéristique,

l'observation de spermatides et de spermatozoïdes des souris *azh* (pour abnormal sperm head) ^{-/-} s'est révélée également informative (Mochida *et al.*, 1999) : un étranglement à la partie postérieure de la tête est associé à de fréquentes décapitations ou dislocations de têtes. Ceci suggère l'implication de la protéine *Hook-1* (qui est tronquée chez les souris mutantes *azh*^{-/-}) comme lien entre vésicules et microtubules (Kierszenbaum *et al.*, 2004).

La pathologie humaine a elle aussi apporté sa contribution dans la compréhension de la formation de l'acrosome. En effet, la globozoospermie est une anomalie de la morphologie du spermatozoïde humain caractérisée par une tête spermatique ronde, dépourvue d'acrosome (Figure 4), la pièce intermédiaire et le flagelle, particulièrement à son insertion sur la pièce intermédiaire, sont également fréquemment désorganisés. Ces anomalies sont à l'origine d'une stérilité chez l'homme. La description de cas familiaux présentant ce type d'anomalie morphologique laisse suspecter une origine génétique à ce type d'infertilité (Kilani *et al.*, 2004). Tout récemment, l'étude génétique d'une famille consanguine comportant plusieurs frères présentant une globozoospermie et plusieurs autres fertiles a permis la mise en évidence d'une mutation homozygote d'un gène, liée à la pathologie (Dam *et al.*, 2007).

La famille que nous avons étudiée comprend trois frères atteints de globozoospermie et trois fertiles (Figure 5). Les frères sains sont pères tous les trois tandis que les frères atteints qui n'ont pas d'enfants présentent une globozoospermie : la tête de tous leurs spermatozoïdes est ronde et dépourvue d'acrosome. Le caryotype des frères est normal et aucune microdélétion n'a été trouvée pour le chromosome Y. Par ailleurs, les différents génomes ont été analysés par puce ADN de 10000 SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*). Ceci a permis d'identifier une région unique d'homozygotie sur le chromosome 3 présente exclusivement chez les trois frères infertiles. L'ex-

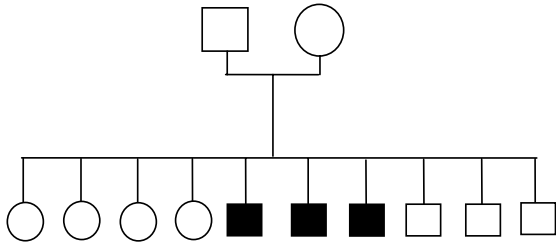


Fig. 5. Arbre généalogique de la famille consanguine étudiée indiquant en foncé les trois frères atteints de globozoospermie.

ploration des gènes de la zone a été menée. Parmi ces 50 gènes, *SPATA16* a été sélectionné. En effet, des études effectuées chez l'Homme ont montré que le gène *SPATA16* appelé également *NYD-SP12* est spécifiquement exprimé dans le testicule. Une localisation plus précise de l'homologue murin a été étudiée : l'expression de *Spata16* a été observée dans le spermatocyte ainsi que dans la spermatide murins (Xu *et al.*, 2003). Par ailleurs, chez la souris, un rôle de la protéine dans la formation de l'acrosome durant la spermatogenèse est également suspecté : en effet, la fusion de la protéine avec la protéine GFP a permis de la localiser dans l'appareil de Golgi et dans les vésicules de Golgi en transit vers l'acrosome (Lu *et al.*, 2006).

Le gène *SPATA16* localisé sur le chromosome 3 (3q26.34) est composé de 11 exons et code pour une protéine de 65kDa (569aa) qui contient un domaine de répétition tétratricopeptidique ou TPR, domaine d'interaction protéine-protéine ainsi que d'assemblage de complexes multiprotéiques.

À la recherche d'éventuelles mutations de *SPATA16* qui seraient à l'origine de la pathologie dans la famille, l'analyse génétique de la séquence de *SPATA16* chez un des frères atteints a mis en évidence une mutation homozygote.

Afin de confirmer la présence de la mutation dans cette famille, l'exon muté du gène *SPATA16* a été amplifié/séquencé chez tous les membres de la famille et la mutation a été retrouvée à l'état homozygote chez tous les frères atteints de la famille et à l'état hétérozygote chez deux frères sains ainsi que chez les parents. Chez le troisième frère sain de la famille, la mutation n'a pas été retrouvée du tout. Par ailleurs, l'hypothèse d'un éventuel polymorphisme de ce gène a été éliminée par la recherche (vaine) de cette mutation chez 231 autres hommes dont 80 fertiles.

La mutation mise en évidence affectant un site d'épissage, c'est la traduction de l'exon consécutif tout entier qui est perturbée menant à la synthèse d'une protéine amputée de son domaine TPR. Ceci suggère que *SPATA16* a besoin de ce domaine pour exercer

sa pleine fonction dans la biogenèse de l'acrosome humain. L'observation de *Spata16* dans les spermatides murines successivement dans les dérivés cis-golgien puis dans les vésicules confluentes amarrées à l'acroplaxome suggère un rôle pour *SPATA16* dans le transport des vésicules proacrosomiales.

La mise en évidence de l'implication de *SPATA16* dans cette globozoospermie familiale a été suivie de l'étude de 15 autres patients présentant également une globozoospermie : aucune mutation n'a été retrouvée dans aucun des 11 exons de *SPATA16*. Il existe donc probablement d'autres gènes responsables de cette pathologie.

Perspectives

La mise en évidence de l'implication de gènes dans la formation de l'acrosome humain enrichit les connaissances fondamentales sur les mécanismes de la spermiogenèse.

En outre, l'intérêt d'identifier un tel gène ne s'exprimant que dans le testicule pourrait mener à une méthode contraceptive. En effet, une structure médicamenteuse bloquant *SPATA16* par exemple perturberait la fonction des spermatozoïdes ou des spermatides et pourrait mener ainsi à une impossibilité pour les spermatozoïdes d'être fécondants.

Références

- Afzedius B.A., sperm structure in relation to function and phylogeny, dans the sperm cell, chapter 6, pp. 386-94, Martinus Nijhoff Publishers, 1982.
- Anderson W.A. & Personne P., The form and function of spermatozoa : a comparative view. Proceeding of the second international symposium : the functional anatomy of the spermatozoon, pp. 3-14, 1973.
- Courtens J.L., Delaleu B., Loir M. Microtubules and spermatogenesis. dans the sperm cell, chapter 3, pp. 236-44, Martinus Nijhoff Publishers, 1982.
- Dam A., Koscinski I., KKKremer J., Moutou C., Jaeger A.S., Oudakker A., Tournaye H., Charlet N., Lagier-Tourenne C., van Bokhoven H., Viville S. Homozygous mutation in *SPATA16* is associated with male infertility in human globozoospermia. *AmJ Hum Genet.* 2007, 81, 813-820.
- Franzen A., dans "comparative spermatology" (Bacetti B ed.), pp. 29-46, Academic Press, New-York and London, 1970.
- Holstein A.F., Roosen-Runge E.C., Schirren C., Illustrated pathology of human spermatogenesis. Berlin : Grosse ; 1988.
- Kang-Decker N., Mantchev G.T., Juneja S.C., McNiven MA, van Deursen J.M. Lack of acrosome formation in Hrb-deficient mice. *Science.* 2001, 294, 1531-3.

- Kierszenbaum A. & Tres L.L. The acrosome-acroplaxome-manchette complex and the shaping of the spermatid head. *Arch. Histol. Cytol.*, 2004, 67, 271–84.
- Kilani Z., Ismail R., Ghunaim S., Mohamed H., Hughes D., Brewis I., Barratt C.L. Evaluation and treatment of familial globozoospermia in five brothers. *Fertil Steril.* 2004, 82, 1436–9.
- Lu L., Lin M., Xu M., Zhou Z.M., Sha J.H. Gene functional research using polyethylenimine-mediated in vivo gene transfection into mouse spermatogenic cells. *Asian J. Androl.*, 2006, 8, 53–9.
- Mochida K., Tres L.L., Kierszenbaum A.L. Structural and biochemical features of fractionated spermatid manchettes and sperm axonemes of the *azh/azh* mutant mouse. *Mol. Reprod. Dev.*, 1999, 52, 434–44.
- Moreno R.D., Alvarado C.P., The mammalian acrosome as a secretory lysosome : new and old evidence. *Mol. Reprod. Dev.*, 2006, 73, 1430–4. Review.
- Moreno R.D., Ramalho-Santos J., Chan E.K., Wessel G.M., Schatten G. The Golgi apparatus segregates from the lysosomal/acrosomal vesicle during rhesus spermiogenesis : structural alterations. *Dev. Biol.*, 2000, 219, 334–49.
- Oh-Oka T., Tanii I., Wakayama T., Yoshinaga K., Watanabe K., Toshimori K., Partial characterization of an intra-acrosomal protein, human acrin1 (MN7). *J. Androl.*, 2001, 22, 17–24.
- Xu M., Xiao J., Chen J., Li J., Yin L., Zhu H., Zhou Z., Sha J. Identification and characterization of a novel human testis-specific Golgi protein, NYD-SP12. *Mol Hum Reprod.* 2003, 9, 9–17.
- Yao R., Ito C., Natsume Y., Sugitani Y., Yamanaka H., Kuretake S., Yanagida K, Sato A, Toshimori K, Noda T. Lack of acrosome formation in mice lacking a Golgi protein, GOPC. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.*, 2002, 99, 11211–6.