

Composition lipidique membranaire durant la préparation de spermatozoïdes à la fécondation

S HAMAMAH*, G GRIZARD**, M LANSON°, B SION**, P BARRIÈRE°, D ROYÈRE*

* *Unité de Biologie de la Reproduction, Dépt de Gynécologie-Obstétrique, ° Laboratoire de Biochimie - CHU Bretonneau, Tours ; ** Service de Biologie de la Reproduction, Hôtel Dieu, Clermont Ferrant, France ; °° Laboratoire de Biologie de la Reproduction, Département de Gynéco-Obs, Hôpital mère-Enfant, 44035 Nantes*

RESUME

Il existe des différences dans la composition lipidique des membranes plasmique, acrosomique, nucléaire et mitochondriale des spermatozoïdes. Les principaux phospholipides membranaires sont la phosphatidylcholine, la phosphatidyl éthanolamine et la sphingomyéline. La membrane plasmique du spermatozoïde est également riche en acides gras polyinsaturés (AGPI) fixés aux phospholipides. On y observe des dérivés comme C_{18:2} n-6, C_{20:4} n-6 et des teneurs importantes en acide docosahénaoïque (C_{22:6} n6).

La quantité de lipides membranaires du sperme humain varie considérablement d'un sujet à l'autre. Ces variations cependant, pourront influencer certaines propriétés fonctionnelles du spermatozoïde telle que la capacitation, la réaction acrosomique et l'expression fusiogène des membranes.

La composition lipidique membranaire peut être altérée au cours de la congélation-décongélation du sperme. Une diminution significative des phospholipides et des AGPI, en particulier l'acide docosahénaoïque et l'acide arachidonique, a été observée. Le changement le plus important constaté dans

l'architecture lipidique membranaire du sperme congelé-décongelé est une translocation du diphosphatidylglycérol (cardiolipide) du feuillet interne vers le feuillet externe. Un tel changement pourrait avoir un effet délétère sur la réaction acrosomique du spermatozoïde.

Le sperme humain a un rapport molaire cholestérol/phospholipides ≤ 1.0 et celui-ci décroît par perte de cholestérol pendant la capacitation. Outre la diminution du cholestérol, la méthylation des phospholipides intervient dans les modifications de la fluidité et sur la maturation des récepteurs de la membrane plasmique du spermatozoïde.

Mots clés : spermatozoïde, lipides, membrane plasmique, capacitation

INTRODUCTION

Les ultimes modifications que les spermatozoïdes subissent correspondent à la déstabilisation de leur membrane plasmique, étape indispensable pour faciliter la fusion des membranes et la transmission de signaux lors de la fécondation. Cette déstabilisation se traduit par une série de changements et de modulations des lipides membranaires impliquant le cholestérol, les phospholipides et les glycolipides [11, 12, 23, 24].

Les lipides, en particulier le cholestérol et les phospholipides constituant essentiels des membranes ont un rôle important sur les propriétés fonctionnelles (capacitation, réaction acrosomique, activité fusiogène) du spermatozoïde. La résistance aux chocs thermiques (appréciée au cours de la cryopréservation) dépend aussi de la composition lipidique de la membrane plasmique. L'influence des lipides est fonction de la quantité relative de chacun d'entre eux en particulier du rapport cholestérol/phospholipides, de la nature des phospholipides et des acides gras et de distribution relative de ces lipides au sein de la bicouche.

Dans les spermatozoïdes de mammifères, les protéines ainsi que les phospholipides membranaires sont les cibles de transméthylations. Chez le hamster, la méthylation des phospholipides des spermatozoïdes épididymaires intervient pendant de la capacitation et lors de la réaction acrosomique [29, 26]. Il semble donc que la méthylation soit impliquée dans l'expression fusiogène entre la membrane plasmique du spermatozoïde et celle de l'ovocyte. Ainsi, la phospholipase A2 du spermatozoïde intervient dans la déstabilisation de la membrane plasmique par le fait qu'elle entraîne la production de lysophosphatidylcholine. Cette enzyme est alors impliquée dans la réaction acrosomique, événement indispensable pour que le spermatozoïde puisse fusionner avec l'ovocyte.

COMPOSITION LIPIDIQUE DU SPERME HUMAIN

Dans les spermatozoïdes de patients fertiles ou de sujets normozospermiques, les teneurs en cholestérol et phospholipides membranaires varient d'un sujet à l'autre (Figure 1). Ces variations s'expliquent en partie par les techniques de dosage utilisées. Le rapport cholestérol/phospholipides est cependant ≤ 1 dans le spermatozoïde (Tableau 1).

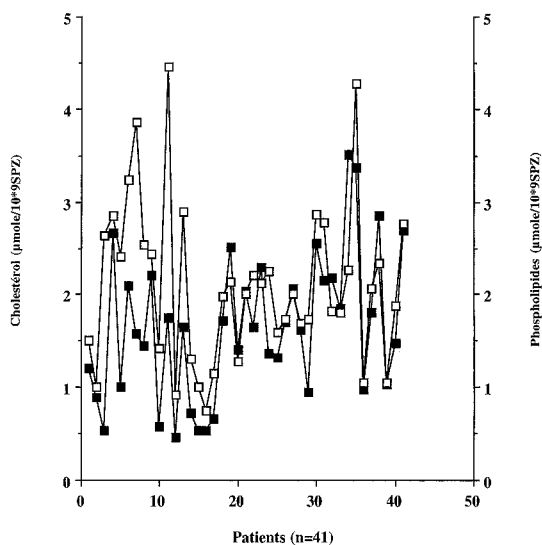


Figure 1. Teneur en cholestérol (■) et phospholipides (□) dans les spermatozoïdes humains (n=41). Les valeurs sont exprimées en $\mu\text{mole}/10^9$ spermatozoïdes.

Par contre, dans le liquide séminal, il existe des différences importantes selon les auteurs, notamment pour le dosage des phospholipides, une interférence est possible avec la choline présente en quantité importante dans le liquide séminal [15]. L'analyse différentielle des phospholipides révèle que le phosphatidylcholine est le phospholipide dominant dans le spermatozoïde, alors que dans le liquide séminal, on retrouve préférentiellement de la sphingomyéline (Tableau 2).

Dans le spermatozoïde humain, la structure lipidique de la membrane plasmique a été très peu étudiée. Dans des préparations de membranes partiellement purifiées de spermatozoïdes, le rapport molaire cholestérol/phospholipide est de 0,83 et il existe un enrichissement en glycosphingolipides par rapport à la concentration moyenne dans la cellule [27]. A notre connaissance, la répartition des lipides dans la membrane, en particulier l'asymétrie transversale n'a pas été étudiée dans le spermatozoïde humain. En revanche, il existe quelques

Tableau 1 : Teneur en cholestérol et phospholipides dans les spermatozoïdes humains. Les valeurs sont exprimées en $\mu\text{mole}/10^9$ spermatozoïdes.

Cholestérol ($\mu\text{mol}/10^9$ SPZ)	Phospholipides ($\mu\text{mol}/10^9$ SPZ)	Rapport Cholestérol/ Phospholipides	Auteurs
0.55	1.11	0.99	Darin-Benett et al (1977)
0.84 ± 0.3	1.10 ± 0.46	0.69 ± 0.34	Huacaja et al (1981)
1.22 ± 0.4	14.43 ± 7.4	0.15 ± 0.33	Hoshi et al (1990)
1.98 ± 0.2	1.03 ± 0.1	0.52 ± 0.02	Sugknarsek et al (1991)
2.23 ± 0.2	1.30 ± 0.2	0.61 ± 0.06	Hamamah et al (1993, 1995)
2.17 ± 0.3	2.19 ± 0.3	1.0 ± 0.07	Grizard et al (1995)

Tableau 2 : Distribution de phospholipides dans le sperme humain*.

PC	PE	SM	PS	PI	LPC	LPE	autres	auteurs
spermatozoïdes								
28.8	21.6	21.4	4.7	1.9	2.7	9.4	1.6	Poulos et al, 1973
36.0	20.9	18.9	4.2	1.2	2.8	9.2	-	Sebastian et al, 1987
33.3	22.3	21.4	4.05	1.7	-	8.6	1.9	Gomathi et al, 1993
plasma séminal								
7.8	8.5	44.0	11.2	1.7	0.8	12.3	12.9	Poulos et al, 1973
14.1	9.2	42.6	9.8	1.0	0.9	11.1	11.0	Sebastian et al, 1987
16.6	17.9	40.9	12.0	-	-	-	12.4	Gomathi et al, 1993

* PC : phosphatidyl choline, PE : phosphatidyl éthanolamine, SM : sphingomyéline, PS : phosphatidyl serine, PI : phosphatidyl inositol, LPC : lysophosphatidyl choline, LPE : lysophosphatidyl éthanolamine.

travaux chez l'animal. Dans le spermatozoïde de bouc, le feuillet externe de la bicouche est riche en phosphatidylcholine et sphingomyéline alors que la phosphatidyléthanolamine et le phospholipide dominant dans le feuillet interne [36]. Par contre dans le spermatozoïde de bélier, le phosphatidyléthanolamine sera localisée préférentiellement dans le feuillet externe [19]. Une analyse réalisée en spectroscopie infrarouge montre que la composition lipidique de la tête du spermatozoïde diffère fortement de celle du flagelle. Au niveau céphalique, on retrouve principalement de la phosphatidylcholine, des phosphatidylinositols et de la phosphatidyléthanolamine alors que le flagelle est riche en phosphatidylcholine sous forme de plasmalogène, sphingomyéline, sulfolipides et sulfoglycolipides [22].

Dans le spermatozoïde, les acides gras fixés aux phospholipides sont souvent polyinsaturés (AGPI). On retrouve des dérivés sous forme C₁₈:2,n-6, C₂₀:4,n-6 et des quantités importantes d'acide docosahexanoïque (C₂₂:6,n-6) mais aussi des AGPI à très longue chaîne, qui peuvent contenir jusqu'à 32 atomes de carbone (VLCFA), riches en dérivés polyénoïques en n-6 avec 2 à 4 doubles liaisons. Ils sont principalement retrouvés sous forme d'acyls fixés à la sphingomyéline. Ces VLCFA qui semblent localisés exclusivement dans le testicule et les spermatozoïdes de mammifères jouent probablement un rôle important. Ils pourraient faciliter la survie du spermatozoïde, en maintenant sa cohésion membranaire, dans le tractus génital féminin [37].

MODIFICATION LIPIDIQUE MEMBRANAIRE DES SPERMATOZOÏDES AU COURS DES ETAPES PRECEDANT LA FECONDATION

Au cours de la cryoconservation des spermatozoïdes humains, il existe une diminution des principaux phospholipides, les pertes les plus importantes étant observées pour la phosphatidylcholine et la phosphatidyléthanolamine. La composition en acides gras des phospholipides est aussi modifiée au cours du processus de congélation/décongélation. Il existe une diminution importante des acides gras insaturés, en particulier de l'acide docosahexanoïque et de l'acide arachidonique [1].

Dans les spermatozoïdes humains, le rôle bénéfique du cholestérol au cours du refroidissement pourrait être lié au fait que la phase de transition est peu marquée, ce qui réduirait la fuite potassique intracellulaire et éviterait l'agrégation de particules membranaires responsables d'altérations irréversibles. Des études montrent qu'il existe une relation entre la résistance des spermatozoïdes à un choc froid (appréciée par le nombre de spermatozoïdes vivants après le choc thermique) et sa composition lipidique. La meilleure tolérance au froid est observée pour les spermatozoïdes humains, c'est-à-dire ceux qui ont une concentration en cholestérol et un rapport cholestérol/phospholipides élevés et une composition en acides gras liés aux phospholipides caractérisée par le plus faible rapport acides gras polyinsaturés/acides gras saturés [4].

Des modifications dans la répartition des phospholipides ont été observées sur le spermatozoïde de bélier après congélation à -196°C , en absence de milieu cryoprotecteur. Le changement le plus important est une translocation du diphosphatidylglycérol (cardiolipide) du feuillet interne vers le feuillet externe, qui pourrait avoir un effet délétère sur la réaction acrosomique [19].

Au cours du processus de congélation/décongélation, la production des dérivés oxygénés est probablement augmentée ce qui entraîne un accroissement de la peroxydation des acides gras insaturés responsable d'un changement dans la composition et la structure lipidique de la membrane [1, 2].

Au cours de la capacitation et la réaction acrosomique, la composition lipidique membranaire du spermatozoïde est modifiée quantitativement et qualitativement. Un afflux du cholestérol membranaire a été mis en évidence lors de la capacitation dans plusieurs espèces : hamster [25], rat [5, 6], souris [13], homme [23]. La diminution du cholestérol et des phospholipides après capacitation est liée en grande partie à une diminution de ces lipides dans les membranes plasmiques et acrosomiques puisque 70% des lipides extraits des spermatozoïdes sont retrouvés au niveau de ces membranes.

Le rapport cholestérol/phospholipides semble être un facteur de régulation dans la capacitation et la réaction acrosomique. Avec des spermatozoïdes capacités préparés sur un gradient de Percoll et incubés ensuite dans du milieu de B2 supplémenté de 20% de liquide folliculaire humain (HFF), le rapport cholestérol/phospholipides est significativement plus faible que dans les spermatozoïdes non capacités [17]. Après capacitation, Tesarik et Fléchon [45] ont montré une diminution du rapport cholestérol/lipides anioniques, limitée à la partie antérieure, fusiogène, de la région post-acrosomique. Un déplacement des sulgalactolipides vers cette région au cours de la capacitation, aurait également un rôle bénéfique sur l'activité fusiogène du gamètes [12].

Au delà de changements observés dans la composition et la distribution des lipides membranaires de spermatozoïdes, la capacitation est associée à des modifications physiques de la membrane, notamment de sa fluidité entraînant une augmentation de la perméabilité au Ca^{++} [28].

Plusieurs mécanismes ont été proposés pour expliquer le rôle des stérols [6, 13], des lysophospholipides et des acides gras dans les processus mis en jeu au cours de la réaction acrosomique [8, 10, 33] : modifications de la fluidité membranaire [9], des propriétés fusiogènes [8], de l'activité Ca⁺⁺-ATPase dépendante [38, 39]. Le rôle de l'acide arachidonique en tant que précurseur pour la formation des eicosanoïdes a aussi été évoqué [3, 29, 30].

L'hydrolyse des phosphoinositides (PIs) est essentielle pour l'exocytose, caractéristique de la réaction acrosomique. Elle conduit à la formation de diacylglycérol qui agit notamment en contrôlant l'activité de la phospholipase A2, enzyme qui, via la formation des lysophospholipides, joue un rôle clé dans la fusion des membranes ovocyttaire et spermatique [30, 31]. En activant la phosphoinositidase C, le calcium stimule probablement l'hydrolyse des PIs [46].

La méthylation des phospholipides est également impliquée dans les changements de fluidité et dans la maturation des récepteurs membranaires des spermatozoïdes de hamster doré [26]. La méthylation des phospholipides des spermatozoïdes nécessite la présence de S-Adénosyl Méthionine (SAM) comme cofacteur. La synthèse de SAM est plus importante dans le spermatozoïde humain que dans le spermatozoïde de bovin et sa synthèse est fortement inhibée par une synthétase du plasma séminal [16]. Dans les spermatozoïdes de hamster, des inhibiteurs de la méthylation des phospholipides inhibent la réaction acrosomique.

RELATIONS ENTRE LIPIDES DU LIQUIDE SEMINAL ET LIPIDES DU SPERMATOZOÏDE

Dans les milieux biologiques, il existe des échanges de lipides, en particulier de cholestérol entre le spermatozoïde et le milieu environnant. Ces transferts sont fonction

des concentrations relatives de ces composés entre le spermatozoïde et le milieu [21] mais aussi de certaines protéines qui pourraient jouer le rôle d'accepteur du cholestérol. Outre l'albumine, des protéines spécifiques, participant aux transferts du cholestérol et capables de stimuler la capacitation ont été caractérisées par exemple dans le liquide folliculaire humain [32].

Dans le liquide séminal humain, il existe plusieurs formes de lipoparticules : les prostasomes (vésicules multilamellaires) et des particules apparentées aux lipoprotéines sériques de type HDL-3 contenant ou non de l'Apo A-I (Tableau 3) [40, 43]. Ces facteurs lipidiques du liquide séminal peuvent modifier son activité fonctionnelle. C'est ainsi que les effets inhibiteurs du liquide séminal sur l'activité fécondante du sperme s'expliqueraient, pour une part, par la présence de facteurs, par exemple des vésicules lipidiques riches en cholestérol qui ont un effet décapacitant pour le gamète [5].

Tableau 3 : Propriétés physico-chimiques de lipoparticules du plasma séminal (ps) humain.

	prostasomes	lipoprotéines
densité	1.13 < d < 1.22	1.08 < d < 1.20
cholestérol (nmol/ml ps)	154 ± 47	252 ± 54
phospholipides (nmol/ml ps)	32 ± 17	56 ± 19
protéines (mg/ml ps)	0.30 ± 0.02	40 ± 2

Des concentrations trop élevées d'acides gras libres entraînent une agglutination et une immobilisation totale des spermatozoïdes, cet effet augmente avec le degré d'insaturation mais ne semble pas lié à une peroxydation des lipides [42].

RELATIONS ENTRE LIPIDES SANGUINS ET LIPIDES DU SPERMATOZOÏDE

Les relations entre le métabolisme lipidique du sujet et la constitution lipidique du spermatozoïde ont été très peu étudiées. Les dyslipidémies pourraient entraîner des altérations de certains paramètres du sperme mais aucune hypothèse n'a été avancée, notamment en ce qui concerne l'état lipidique du gamète pour expliquer ces anomalies [34].

Chez l'homme l'hypercholestérolémie (cholestérolémie > 6,42 mmoles/l ; triglycéridémie < 2 mmoles/l) ne s'accompagne d'aucune modification des teneurs en cholestérol et phospholipides dans le spermatozoïde [15]. Par contre, chez le lapin, présentant une hypercholestérolémie, induite par un régime riche en cholestérol, la réaction acrosomique s'effectue plus lentement que chez le témoin. Cette différence pourrait s'expliquer par un changement dans la répartition du cholestérol au niveau de la membrane, bien que le rapport cholestérol/phospholipide dans le spermatozoïde ne soit pas modifié [7].

CONCLUSION

La capacitation est associée à un épuisement en cholestérol membranaire. La variation en cholestérol membranaire influence directement la fonction acrosomique et les sites de fixation sperme-zone pellucide.

Le niveau d'échange du cholestérol membranaire avec le compartiment extracellulaire est fonction du taux de lipoprotéines sérique (HDL, LDL, VDL), albumine, LCAT.

Les œstrogènes stimulent l'afflux de cholestérol membranaire en augmentant le taux de stérols accepteurs. Cependant, les androgènes agissent de façon inverse.

Parallèlement à une diminution du rapport cholestérol/phospholipides, on observe une augmentation de la perméabilité membranaire au Ca²⁺, nécessaire à la déstabilisation de la membrane plasmique de spermatozoïdes.

REFERENCES

1. ALVAREZ JC, STOREY BD : Evidence for increased lipid peroxidative damage and loss of superoxide dismutase activity as a mode of sublethal cryodamage to human sperm during cryopreservation. *J Androl* 1992 13 : 232-241.
2. BELL M, WANG R, HELLSTROM WJG, SIKKA S : Effect of cryoprotective additives and cryopreservation protocol on sperm membrane lipid peroxidation and recovery of motile human sperm. *J Androl* 1993 14 : 472-478.
3. BREITBART H, LAX J, RUBINSTEIN S, MAGID N, GROSSMAN S : The role of 15-lipoxygenase in the mechanism of acrosomal reaction in mammalian spermatozoa. *Biol Reprod* 1988 38 : 94.
4. DARIN-BENNETT A, WHITE IC : Influence of the cholestérol content of mammalian spermatozoa on susceptibility to cold-shock. *Cryobiology* 1977 14 : 466-470.
5. DAVIS BK : Inhibition of fertilizing capacity in mammalian spermatozoa by natural and synthetic vesicles. *Symp Pharmacological Effect of Lipids. AOCs Monograph N° 5 (Champaign, IL), 1978, pp. 145-157.*
6. DAVIS BK : Timing of fertilization in mammals: sperm cholestérol/phospholipid ratio as a determinant of the capacitation interval. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981 78 : 7560-7564.
7. DEAZ-FONTDEVILA M, BUSTOS-OBREGON E : Cholesterol and polyunsaturated acid enriched diet : effect on kinetics of the acrosome reaction in rabbit spermatozoa. *Mol reprod develop* 1993 35 : 176-180.
8. FLEMING AD, YANAGIMACHI R : Effects of various lipids on the acrosome reaction and fertilizing capacity of guinea pig spermatozoa with special reference to the possible involvement of lyso phospholipid in the acrosome reaction. *Gametes Res* 1981 4 : 253-273.
9. FLEMING AD, KOSOWER NS, YANAGIMACHI R : Promotion of capacitation of guinea pig spermatozoa by the membrane mobility agent, A2C, and inhibition by the disulfide-reducing agent, DTT. *Gamete Res* 1982 5 : 19-33.

10. FLEMING AD, YANAGIMACHI R : Evidence suggesting the importance of fatty acids and the fatty acid moieties of sperm membrane phospholipids in the acrosome reaction of guinea pig spermatozoa. *J Exp Zool* 1984 229 : 485-489.
11. GADELLA BM, GADELLA TWJ, JR, COLENBRANDER B, VAN GOLDE LMG, LOPES-CARDOZO M : Visualization and quantification of glycolipid polarity dynamics in the plasma membrane of the mammalian spermatozoon. *J Cell Sci* 1994 107 : 2151-2163.
12. GADELLA BM, LOPES-CARDOZO M, VAN GOLDE LMG, COLENBRANDER B, GADELLA TWJ : Glycolipid migration from the apical to equatorial subdomains of the sperm head plasma membrane precedes the acrosome reaction. Evidence for a primary capacitation event in boar spermatozoa. *J Cell Sci* 1995 108 : 935-946.
13. GO KJ, WOLF DP : The role of sterols in sperm capacitation. *Adv Lipid Res* 1983 20 : 317-330.
14. GOMATHI C, BALASUBRAMANIAN K, VIJAYA BHANU N, SRIKANTH V, GOVINDARAJULU P : Effects of chronic alcoholism on semen Studies on lipids profiles. *Int J Androl* 1993 16 : 175-18.
15. GRIZARD G, SION B, JOUANEL P, BENOIT P, BOUCHER D : Cholesterol, phospholipids and markers of the function of the accessory sex glands in the semen of men with hypercholesterolemia. *Int J Androl* 1995 18 : 151-156.
16. GUERIN P, GHARRIB A, MENEZO Y : Synthesis of S-Adenosyl-Methionine/S-Adenosyl-Homocysteine in human and bovine ejaculated spermatozoa. *Mol Androl* 1991 3 : 9-17.
17. HAMAMAH S, LANSON M, BARTHELEMY C, GARRIGUE M-G, LANSAC J, MUH J-P, ROYERE D : Treatment of human spermatozoa with follicular fluid can influence lipid content and motility during in vitro capacitation. *Reprod Nutr Dev* 1993 33 : 429-435.
18. HAMAMAH S, LANSON M, BARTHELEMY C, GARRIGUE M-G, MUH J-P, ROYERE D, LANSAC J : Analysis of the lipid content and the motility of human sperm after follicular fluid treatment. *Andrologia* 1995 27 : 91-97.
19. HINKOVSKA-GALCHEVA V, PETROVA D, KOU-MANOV K : Changes in the phospholipid composition and phospholipid asymmetry of ram sperm plasma membranes after cryopreservation. *Cryobiol* 1989 26 : 70-75.
20. HOSHI K, AITA T, YANAGIDA K, YOSHIMATSU N, SATO A : Variation in the cholestérol/phospholipid ratio in human spermatozoa and its relationships with capacitation. *Human Reprod* 1990 5 : 71-74.
21. HUACUJA L, DELGADO NM, CALZADA L, WENS A, REYES R, PEDRON N, ROSADO A : Exchanges of lipids between spermatozoa and seminal plasma in normal and pathological human semen. *Arch Androl* 1981 7 : 343-349.
22. HUACUJA L, DELGADO NM, HERNANDEZ O, ROSADO A : Differences in lipoprotein composition between heads and tails of human sperm : an infrared spectroscopy study. *Arch Androl* 1990 24 : 17-27.
23. LANGLAIS J, ROBERTS KD : A molecular membrane model of sperm sterol content during capacitation and the acrosome reaction of mammalian spermatozoa. *Gametes Res* 1985 12 : 183-224.
24. LANGLAIS J, KAN FWK, GRANGER L, RAYMOND L, BLEAU G, ROBERTS KD : Identification of sterol acceptors that stimulate cholestérol efflux from human spermatozoa during in vitro capacitation. *Gamete Res* 1988 20 : 185-201.
25. LEGAULT Y, BOUTHILLER M, BLEAU G, CHAPEDELAIN A, ROBERTS KD : The sterol and sterol sulfate content of the male hamster reproductive tract. *Biol Reprod* 1979 20 : 1213-1219.
26. LLANOS MN, MEIZEL S : Phospholipid methylation increases during capacitation of golden hamster sperm in vitro. *Biol Reprod* 1983 28 : 1043-1051.
27. MACK SR, EVERINGHAM J, ZANEVELD LJD : Isolation and partial characterization of the plasma membrane from human spermatozoa. *J Exp Zool* 1986 240 : 127-136.
28. MANN T : *The Biochemistry of semen and the male reproductive tract*. New York: Methuen, 1964.
29. MEIZEL S, TURNER KO : Stimulation of an exocytose event, the hamster sperm acrosome reaction, by cis-unsaturated fatty acid. *FEBS Lett* 1983 161 : 315-318.
30. MEIZEL S, TURNER KO : The effects of products and inhibitors of arachidonic metabolism on the hamster sperm acrosome reaction. *J Exp Zool* 1984 207 : 107-111.
31. MOOS J, CARRERA A, TESARIK J, MOSS SB, GERTON GL, KOPF GS : Regulation, localization and identity of phosphotyrosine-containing proteins in human sperm. *Biol Reprod* 1995 52 (Suppl) : 168.
32. MULLER CH, RAVNIK SE : Lipid transfer protein : a natural stimulator of the sperm capacitation process. In: *Human sperm acrosome reaction*. P. Fenichel, J. Parinaud (eds), Colloque INSERM/John Libbey Eurotest , 1995 236 : 67-84.

33. OHZU E, YANAGIMACHI R : Acceleration of acrosome reaction in hamster spermatozoa by lyssolecithin. *J Exp Zool* 1982 224 : 259-263.
34. PADRON RS, MAS J, ZAMORA R, RIVEROL F, LICEA M, MALLEA L, RODRIGUEZ J : Lipids and testicular function. *Int Urol Nephrol* 1989 21 : 515-519.
35. POULOS A, WHITE IG : The phospholipid composition of human spermatozoa and seminal plasma. *J Reprod Fertil* 1973 35 : 265-272.
36. RANA APS, MISRA S, MAJUNDER GC, GHOSH A : Phospholipid asymmetry of goat sperm plasma membrane during epididymal maturation. *Biochimica Biophysica Acta* 1993 1210 : 1-7.
37. ROBINSON BS, JOHNSON DW, POULOS A : Novel molecular species of sphingomyelin containing 2-hydroxylated polyenoic very long-chain fatty acids in mammalian testes and spermatozoa. *J Biol Chem* 1992 267 : 1746-1751.
38. ROLDAN ERS, FLEMING AD : Is a Ca²⁺-ATPase involved in Ca²⁺ regulation during capacitation and the acrosome reaction of guinea pig spermatozoa? *J Reprod Fertil* 1989 85 : 297-308.
39. ROLDAN ERS : Role of phosphoinositides in the mammalian sperm acrosome reaction. In: Human sperm acrosome reaction. P Fenichel, J Parinaud (Eds). Colloque INSERM/John Libbey Eurotest, 1995 236 : 225-243.
40. RONQUIST G, BRODY I : The prostasome : its secretion and function in man. *Biochemistry - Biophysical Acta* 822 : 203-218.
41. SEBASTIAN SM, SELVARAJ S, ARULDHAS MM, GOVINDARAJULU P : Pattern of neutral and phospholipids in the semen of normospermic, oligospermic and azoospermic men. *J Reprod Fertil* 1987 79 : 373-378.
42. SIEGEL I, DUDKIEWICZ AB, FRIBERG J, SUAREZ M, GLEICHER N : Inhibition of sperm motility and agglutination of sperm cells by free fatty acids in whole sperm. *Fertil Steril* 1986 45 : 273-279.
43. SION B, GRIZARD G, NOUAILLES C, BOUCHER D : Analyse des différentes formes de transport des lipides dans le liquide séminal humain. *Contracept Fertil Sex* 1994 22 : 344.
44. SUGKRAROEK P, KATES M, LEADER A, TANPHAICHITR N : Levels of cholestérol and phospholipids in freshly ejaculated sperm and Percoll-gradient-pelleted sperm from fertile and unexplained infertile men. *Fertil Steril* 1991 55 : 820-827.
45. TESARIK J, FLECHON JE : Distribution of sterols and anionic lipids in human sperm plasma membrane: effect of in vitro capacitation. *J Ultrastruct Mol Struct Res* 1986 97 : 227-237.
46. TESARIK J, MENDOZA C, RAMIREZ JP, MOOS J : Solubilized human zona pellucida competes with a fucosylated neoglycoprotein for binding sites on the human sperm surface. *Fertil Steril* 1993 60 : 344-350.

ABSTRACT

S. HAMAMAH, G. GRIZARD ET AL

The final modifications that the spermatozoa undergo correspond with the destabilization of their plasma membrane. This indispensable step facilitates the fusion of membranes and primes the signal transduction during fertilization. This destabilization is composed of a series of changes and modulation of the lipids in membranes such as cholestérol, phospholipids and glycolipids.

Several differences exist in the lipid composition of the plasma, acrosome, nuclear and mitochondrial membranes of spermatozoa. The principal membrane phospholipids are phosphatidyl choline, phosphatidyl ethanolamine and sphingomyelin. Plasma membrane of sperm is also rich in polyunsaturated fatty acids (PUFA) linked to phospholipids. Such as C_{18:2n-6}, C_{20:4n-6} and large amounts of docosahexaenoic acid (C_{22:6n-6}).

The amount of membrane lipids in human sperm varies considerably between patients. This variation, could influence certain functional properties of the sperm cells such as their ability to undergo capacitation, the acrosome reaction and the fusion between sperm and oocyte membranes.

The lipid composition of the human sperm cell can be altered during the process of freezing-thawing. A significant decrease in phospholipids (phosphatidyl choline, phosphatidyl ethanolamine), and PUFA in particular doco-

sahexaenoic acid and arachidonic acid was observed. Human spermatozoa have a molar cholestérol/phospholipid ratio ≤ 1.0 , and reduces during capacitation due to loss of cholestérol. In addition, the decrease in the levels of cholestérol and the methylation of phospholipids is involved in the modification of membrane fluidity and in the maturation of the sperm plasma membrane receptors. Therefore it seems that the methylation is impor-

tant for the fusion between sperm and oocyte membranes. Intrinsic sperm phospholipase A2 also plays a role in the destabilization of the plasma membrane by producing of lysophospholipid. Therefore this enzyme and free fatty acids are believed to play a role in the acrosome reaction, an indispensable event facilitating the fusion between sperm and oocyte membranes.

Key words : Lipids, sperm, membrane, capacitation.