

Évolution de la composante lipidique de la membrane plasmique des spermatozoïdes durant la maturation épидидymaire

Changes in spermatozoa plasma membrane lipid composition during epididymal maturation

H. Rejraji · F. Saez · J.-R. Drevet

© Springer-Verlag 2009

Résumé Un des aspects de la maturation posttesticulaire des spermatozoïdes chez les mammifères est l'évolution progressive de la composition lipidique de la membrane plasmique des gamètes mâles qui permet à ces derniers d'acquérir des capacités fusogènes particulières déterminantes pour la fécondation. Une part importante de cette modification du contenu lipidique de la membrane des gamètes mâles est assurée lors de la descente des spermatozoïdes dans le tubule épидидymaire. Les mouvements lipidiques seront ensuite poursuivis dans les voies génitales femelles au cours d'un processus dynamique, la capacitation, étape préalable indispensable à la réaction acrosomique, et donc, à la fécondation. Cette revue fait l'état des lieux des connaissances acquises par divers groupes de recherche dans le premier volet épидидymaire de la maturation lipidique des gamètes mâles dans différents modèles de mammifères.

Mots clés Spermatozoïdes · Maturation posttesticulaire · Mammifères · Lipids

Abstract One aspect of mammalian post-testicular sperm maturation is the progressive change in their plasma membrane lipid composition. These modifications in lipids allow sperm cells to fuse with oocytes during fertilization. A significant share of these sperm lipid changes occurs during their descent through the epididymal tubule. It then continues within the female genital tract during the capacitation process, an essential prerequisite for acrosomic reaction and hence fertilization. This review presents what

is known concerning the sperm plasma membrane lipid changes during epididymal maturation in various mammalian models. In the first section, after a brief presentation of the classic eukaryotic cell plasma membrane lipid organization, the emphasis is on the particularities of sperm plasma membrane lipids. The second section presents the different changes occurring in the three major classes of lipids (i.e. phospholipids, sterols and fatty acids) during the sperm's epididymal descent. The final section briefly describes the mechanisms by which these lipid changes might happen in the epididymal lumen environment. The role played by lipid-rich vesicles secreted by the epididymal epithelium via apocrine secretory processes is highlighted.

Keywords Spermatozoa · Post-testicular maturation · Mammals · Lipids

Abréviations

AG, acides gras ; AGI, acides gras insaturés ; AGPI, acides gras polyinsaturés ; AGS, acides gras saturés ; AA, acide arachidonique ; Chol, cholestérol ; DHA, acide docosahexaénoïque ; DPA, acide docosapentanoïque ; EORs, espèces oxygénées réactives ; PC, phosphatidylcholine ; PE, phosphatidyléthanolamine ; PS, phosphatidylsérine ; PI, phosphatidylinositol ; PG, phosphatidylglycérol ; CL, cardiolipine ; DPG, diphosphatidylglycérol ; PL, lysophospholipides ; SM, sphingomyéline ; SOD, superoxyde dismutase ; GPX, glutathion peroxydase ; GPI, glycosyl phosphatidylinositol

Introduction

Les lipides représentent entre 20 et 80 % de la masse des membranes cellulaires animales. Ils constituent un mélange hétérogène de phospholipides, de glycolipides et de stérols [1]. Ils forment une barrière structurale plus ou moins perméable entre le cytoplasme cellulaire et le compartiment extracellulaire, ainsi qu'une matrice permettant le fichage

H. Rejraji
Laboratoire de biologie de la reproduction, EA975,
université d'Auvergne, F-63000 Clermont-Ferrand, France

F. Saez · J.-R. Drevet (✉)
CNRS UMR 6247 - GReD, Inserm U931, Clermont Université,
24, avenue des Landais, F-63177 Aubière cedex, France
e-mail : joel.drevet@univ-bpclermont.fr

ou l'incorporation des protéines [2]. Le spermatozoïde, comme toute cellule animale, présente une membrane plasmique composée d'une bicouche lipidique. La membrane spermatique est constituée des composants lipidiques classiques. Ce sont leurs combinaisons et leurs évolutions, essentiellement au cours de la maturation épидидymaire, puis, plus tard, dans les voies génitales femelles, qui confèrent à la membrane plasmique des spermatozoïdes des propriétés particulières, déterminantes pour la fécondation.

Membrane(s) du spermatozoïde ?

Les premières analyses sur la composition des lipides membranaires du gamète mâle datent des années 1970. Elles ont été réalisées sur des spermatozoïdes entiers. Le compartiment cytoplasmique étant quasiment inexistant, les lipides isolés sont principalement d'origine membranaire [3-8]. Cependant, ces compositions lipidiques ne sont pas le reflet de la seule membrane plasmique des spermatozoïdes mais de celles de toutes les membranes présentes dans le spermatozoïde, incluant les membranes de l'acrosome, du système mitochondrial, du noyau et éventuellement des organelles résiduelles présentes dans la gouttelette cytoplasmique.

Des techniques permettant l'étude de la composition de la membrane plasmique du spermatozoïde ont été développées depuis quelques années [9-15]. Deux approches sont utilisées comprenant une étape d'extraction et de purification de la membrane. La première consiste en l'extraction de toute la membrane plasmique par sonication ou choc hypotonique [10,15]. La purification est réalisée par gradient de sucrose ou de polymères (technique *aqueous two-phase polymer*). La seconde approche permet d'isoler seulement une partie de la membrane plasmique (la région antérieure de la tête du spermatozoïde et plus ou moins de la pièce intermédiaire) par cavitation à l'azote liquide suivi d'un gradient de sucrose [9,11-13].

Ces études permettent une analyse plus fine des événements précurseurs à la capacitation et à la réaction acrosomique, mais elles ont l'inconvénient d'endommager les membranes analysées lors des différentes étapes d'extraction et de purification. De plus, ces techniques d'extraction n'écartent pas le risque de contamination par les autres membranes présentes dans le spermatozoïde. Enfin, même si la membrane plasmique est le siège des principales modifications membranaires de la maturation du spermatozoïde, elle ne représente que 10 % des lipides totaux de la cellule [9]. Ces analyses ne permettent donc qu'une observation limitée de l'évolution membranaire et lipidique du spermatozoïde, et de nombreuses équipes préfèrent encore travailler sur des spermatozoïdes entiers [5,16-19]. C'est pourquoi, l'essentiel de ce qui est rapporté

ci-dessous concerne des évaluations de composition lipidique spermatique réalisées sur des spermatozoïdes entiers.

Composition lipidique des membranes cellulaires : particularités des membranes plasmiques des spermatozoïdes

On distingue trois grands groupes de lipides entrants dans la composition des membranes plasmiques [20] :

- les *lipides complexes* composés d'au moins trois éléments de nature différente. Ils comprennent les phosphoglycérides (phospholipides et plasmalogènes) et les glycolipides (glycérides complexes, sphingolipides et lipopolysaccharides);
- les *lipides simples ou neutres*. Ils contiennent un ou deux composants et sont généralement neutres. Ils englobent principalement les acylglycérols ou glycérides (mono-, di- et triglycérides), les acides gras (AG) et les stérols. Ces derniers pouvant être libres, estérifiés, sulfatés ou liés à un sucre;
- les *protéolipides*, constitués d'une protéine et d'une ancre lipidique permettant le fichage de la protéine dans la bicouche lipidique de la membrane plasmique.

L'essentiel de notre propos va concerner les lipides complexes, simples ou neutres des membranes gamétiques mâles. Les protéolipides, dont l'importance pour le gamète n'est pas à négliger, seront très sommairement traités ici.

Lipides complexes

Les phosphoglycérides dérivent du glycérol par estérification en position sn-3 du glycérol par un dérivé de l'acide phosphorique. Les positions sn-1 et sn-2 sont occupées par des AG associés, soit par une liaison ester formant un 1,2-diacyl phosphoglycéride ou phospholipide, soit par une liaison éther en sn-1 formant un plasmalogène (Fig. 1). Les phospholipides forment la classe la plus représentée des lipides de la plupart des cellules [21-23]. La nature du substituant fixé sur l'acide phosphorique définit la nature du phosphoglycéride. Le plus simple est l'acide phosphatidique estérifié sur le glycérol par l'acide phosphorique (Fig. 2). Il est l'intermédiaire de synthèse des autres phospholipides.

Les phospholipides les plus fréquemment rencontrés dans les membranes des cellules animales sont la phosphatidylcholine (PC), la phosphatidyléthanolamine (PE), la phosphatidylsérine (PS), le phosphatidylinositol (PI), le phosphatidylglycérol (PG). La cardiolipine (CL) ou diphosphatidylglycérol (DPG) est un phospholipide un peu particulier formé de l'association de deux molécules d'acide phosphatidique reliées par un glycérol.

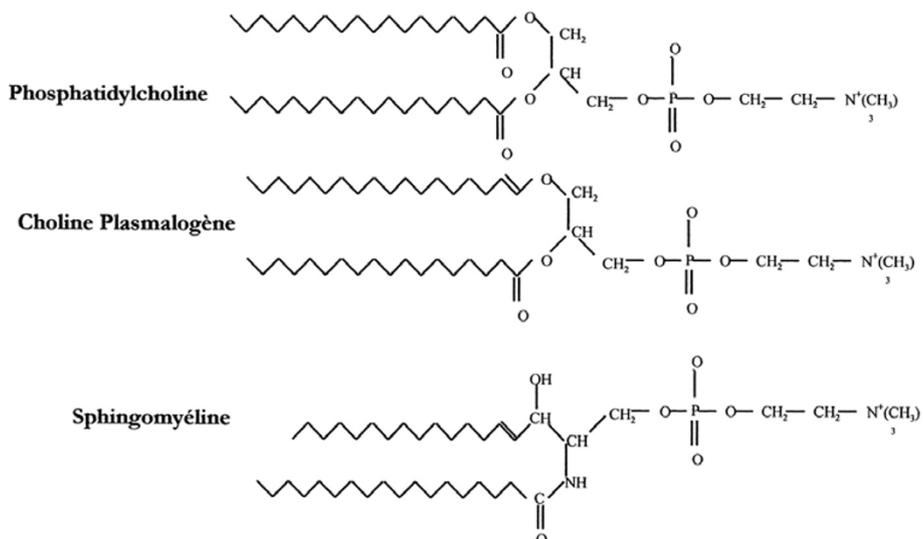


Fig. 1 Formules chimiques de la phosphatidylcholine (PC), choline plasmalogène et de la sphingomyéline (SM). Les plasmalogènes forment un groupe de phospholipides à résidu aldéhyde, contenant un AG estérifié avec un glycérol et un ester insaturé à longue chaîne carbonée. Leur hydrolyse donne un aldéhyde gras et un AG. La choline plasmalogène, la phosphatidylcholine et la sphingomyéline possèdent le même groupement polaire phosphorylcholine

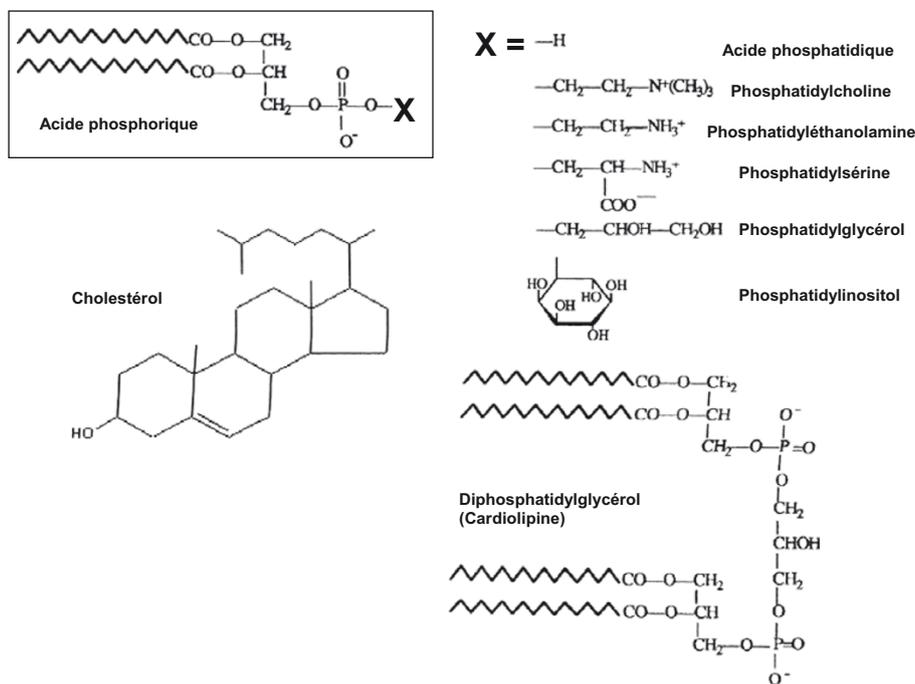


Fig. 2 Formules chimiques de quelques phospholipides communément observés et du cholestérol. La nature du substituant (X) fixé sur l'acide phosphorique définit la nature du phosphoglycéride

Les phospholipides peuvent être hydrolysés sous l'action de phospholipases, notamment A1 et A2, qui conduisent à l'élimination des AG situés respectivement en position sn-1 et sn-2 du glycérol et à la formation des lysophospholipides (LP). En ce qui concerne le gamète mâle, la PE et la PC sont

les phospholipides membranaires majoritaires, quels que soient l'espèce animale ou l'état de maturité du spermatozoïde. En guise d'exemple, PE et PC représentent à elles seules 70 à 80 % des phospholipides de la membrane plasmique du spermatozoïde de bélier [13]. La PS et le PI

représentent respectivement 4 et 3 % des phospholipides totaux des spermatozoïdes [24]. L'importance de ces derniers varie beaucoup d'une espèce à une autre. Assez fréquemment, on les néglige ou leurs proportions sont additionnées avec d'autres composants phospholipidiques mineurs de la membrane [15].

Généralement englobée dans les phospholipides membranaires majeurs, la sphingomyéline (SM) est un sphingolipide constitué d'un céramide substitué sur l'alcool primaire par un groupement phosphorylcholine. La SM représente en moyenne 15 % des lipides totaux des spermatozoïdes. Comme pour la PS et le PI d'une espèce à une autre, la proportion de SM varie énormément. Par exemple, chez le hamster, elle ne représente que 0,6 % des phospholipides totaux du spermatozoïde [18], alors que chez le lapin, la SM contribue pour 22,7 % au total des phospholipides [19].

Le DPG ou CL est connu pour être un marqueur caractéristique des membranes mitochondriales et lysosomiales. Il entre aussi dans la composition des membranes plasmiques de spermatozoïdes isolées et purifiées chez le rat et le bélier [9,10,13]. L'absence de marqueurs mitochondriaux, tels que le cytochrome oxydase, prouve que la détection du DPG n'est pas liée à une contamination par des membranes mitochondriales et pousserait à croire en une nouvelle originalité de la membrane plasmique des spermatozoïdes. Cependant, une contamination par la membrane acrosomique est à envisager. L'acrosome dérivant des vésicules golgiennes, il est fort à penser que sa membrane comporte du DPG [13].

En ce qui concerne les plasmalogènes, ce sont des glycérophospholipides contenant un groupement alkényle lié au glycérol par une liaison vinyléther au lieu d'un groupement acyle lié au glycérol par une liaison ester. Il existe aussi un second type de glycérophospholipides lié au glycérol par une liaison éther et possédant un groupement alkyle au lieu du groupement alkényle des plasmalogènes. On rencontre dans la membrane plasmique des spermatozoïdes à la fois des monoplasmalogènes avec un seul groupement alkényle, généralement en position sn-1 du glycérol, et des diplasmalogènes [22,23]. Les plasmalogènes sont retrouvés dans tous les tissus de mammifères, notamment dans la myéline et le réticulum sarcoplasmique.

Les plasmalogènes sont les « lipides éther » les plus fréquents dans les cellules animales, y compris dans la membrane spermatique. Ils représentent entre 30 et 50 % des phospholipides membranaires suivant les espèces [21,25]. La liaison vinyléther en position sn-1 les rend particulièrement sensibles au stress oxydant. Les plasmalogènes sont à la fois composants structuraux des membranes et réservoir de messagers de voies de transduction de signaux, sous l'action d'une phospholipase A2 plasmalogène-spécifique (notamment dans les membranes neuronales). Ils

interviennent également dans les phénomènes de fusion membranaire, de transports ioniques, de flux de cholestérol (Chol) et agissent parfois comme antioxydants [9,14,26].

Une particularité de la membrane du spermatozoïde est d'être extrêmement riche en plasmalogènes. La choline et l'éthanolamine plasmalogènes sont, chez quelques espèces de mammifères, les phospholipides majoritaires au niveau de la membrane plasmique du spermatozoïde. La choline plasmalogène représente 35 % du phosphore lipidique des spermatozoïdes du taureau [27]. La PE et la PC contenues dans la membrane plasmique des spermatozoïdes de bouc sont à 80 % sous forme alkylacyl et alkénylacyl [14]. Touchstone et al. [19], en 1985, ont réalisé une analyse assez fine de la teneur en plasmalogènes des spermatozoïdes épидидymaires de lapin. Ils démontrent, entre autres, que la PC et la PE sont les principaux phospholipides des spermatozoïdes de lapin. La PC est représentée à 50 % sous forme de monoplasmalogène; la PE à 90 % sous forme de diplasmalogène (10 % étant sous forme di-acyl). Toutes les autres classes de phospholipides présentes dans la membrane spermatique (notamment la SM, le PI et la PS) sont uniquement constituées de diacylglycérophospholipides.

La choline et l'éthanolamine plasmalogènes possèdent une conformation moléculaire très particulière, elles interviennent dans des structures lipidiques très denses et très compactées. Il est proposé que la choline plasmalogène forme des domaines « non diffusibles » qui confèreraient de la stabilité à la membrane. L'éthanolamine plasmalogène polyinsaturée aurait un effet inverse et faciliterait la fusion membranaire [28]. De plus, la liaison éther des plasmalogènes est beaucoup plus stable que la liaison ester, cette dernière étant facilement clivable par l'action de lipases. On suppose que les plasmalogènes procurent une certaine stabilité à la membrane du spermatozoïde, alors que les diacylglycérophospholipides peuvent subir des phases de dégradation et de synthèse plus rapides [27].

Lipides simples

AG membranaires et spermatozoïde

Les AG sous forme libre sont des constituants mineurs des membranes. Ils sont généralement sous forme d'esters associés à la partie polaire des lipides (Fig. 3 et Tableau 1). Leur taille varie de 12 à 24 atomes de carbone. Les acides palmitique (16 : 0) et stéarique (18 : 0) sont les acides gras saturés (AGS) les plus représentés dans la membrane du spermatozoïde quels que soient l'espèce étudiée ou le degré de maturité des spermatozoïdes. On retrouve également en forte proportion des acides gras polyinsaturés (AGPI) à longue chaîne de carbone (de 20 à 22 carbones). Les AGPI les plus rencontrés sont les acides arachidonique (20 : 4n-6), docosapentaénoïque (22 : 5n-3) et docosahexaénoïque

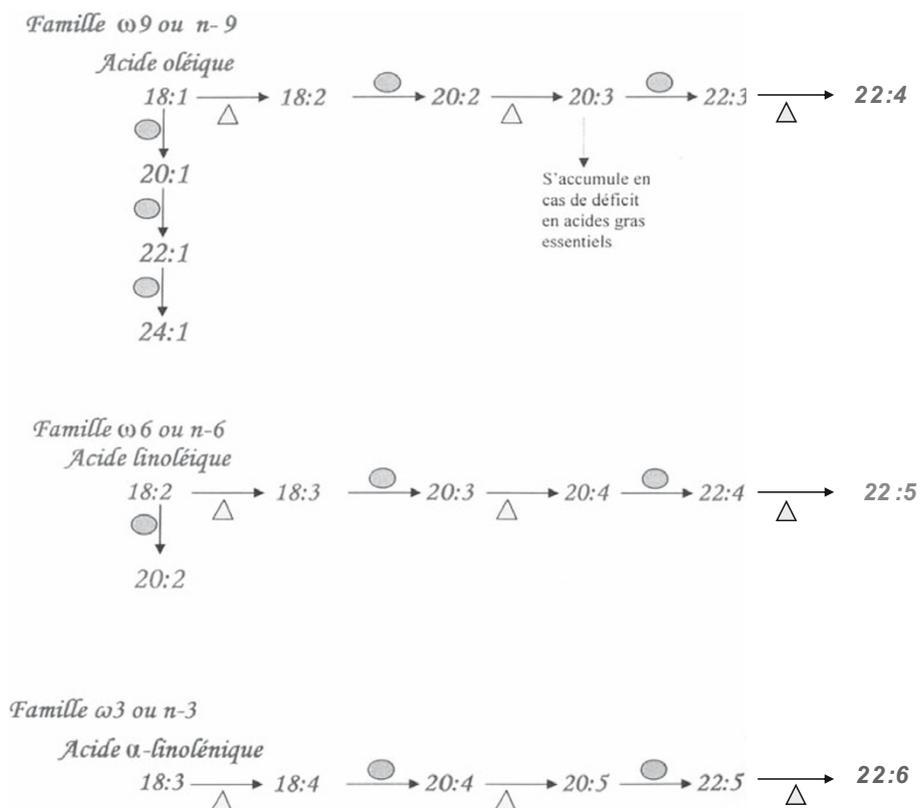


Fig. 3 Représentation schématique de la biosynthèse des AGPI. Cette étape est catalysée par le système des désaturases (delta2 : triangles jaunes) et des élongases (cercles bleus) de la chaîne microsomale. Les AG de la série oméga 9 (ω9) deviennent quantitativement significatifs quand les acides linoléique et alpha-linolénique sont supprimés de l'alimentation. Chaque série entre en compétition pour les mêmes systèmes enzymatiques et les affinités décroissent en allant de la série oméga 3 (ω3) vers oméga 9 (ω9) (d'après Murray et al. [20])

Tableau 1 Noms et formules chimiques de quelques AG communément rencontrés dans les membranes cellulaires (d'après Murray et al. [20])

Noms chimiques (vulgarisés)	Formules	Noms usuels
<i>Acides gras saturés</i>		
Tétradécanoïque	14 : 0	Myristique
Hexadécanoïque	16 : 0	Palmitique
Octodécanoïque	18 : 0	Stéarique
Eicosanoïque	20 : 0	Arachidique
Docosanoïque	22 : 0	Béhénique
Tétracosanoïque	24 : 0	Lignocérique
<i>Acides gras insaturés</i>		
Octadécénoïque	18 : 1n-9 (cis)	Oléique
Octadécadiénoïque	18 : 2n-6 (cis)	Linoléique
Octadécatriénoïque	18 : 3n-9 (cis)	Linolénique
Octadécatriénoïque	18 : 3n-3	Alphalinolénique
Octadécatriénoïque	18 : 3n-6	Gammalinolénique
Eicosatetraénoïque	20 : 4n-6	Arachidonique (AA)
Eicosapentaénoïque (EPA)	20 : 5n-3	Timnodonique
Docosapentaénoïque	22 : 5n-3	Clupanodonique
Docosahexaénoïque (DHA)	22 : 6n-3	Cervonique

(22 : 6n-3). Assez fréquemment, ils dépassent en proportion le 16 : 0 et le 18 : 0 dans la membrane du spermatozoïde mature (épididymaire ou éjaculé).

Il est à noter que la composition en AGPI varie beaucoup d'une espèce à une autre. Chez le hamster et le ver rat, les DHA et DPA représentent entre 30 et 80 % des AG membranaires des spermatozoïdes [5,11,18,27]. Alors que, chez l'homme et le bélier, on retrouve de fortes quantités de DHA mais pas du tout de DPA [13,16,29]. À l'inverse, la membrane plasmique du spermatozoïde de rat contient une forte quantité de DPA, mais pas de DHA. La composition lipidique des spermatozoïdes de rat présente en sus quelques autres particularités. Elle est très riche en acides oléique, linoléique et linoléique (18 : 1n-9, 18 : 2n-6 et 18 : 3n-3). On observe également des AG très originaux, à longue chaîne insaturés de la série des n-9 (principalement les 22 : 4n-9, 22 : 3n-9, 20 : 3n-9 et le 24 : 4n-9). Ces polyènes seraient probablement des dérivés de l'oléate (18 : 1n-9) [9,10,17]. Un dernier exemple de cette hétérogénéité-diversité est donné par le spermatozoïde de bouc, qui contient peu de DHA et DPA au niveau de sa membrane plasmique. Sa composition en AG est constituée essentiellement d'acides oléique, linoléique et arachidonique [14].

D'une manière générale, on observe que la plupart des phospholipides sont associés, préférentiellement, à certains AG ou à un type d'AG (plus ou moins saturés). Au niveau de la membrane du spermatozoïde, on retrouve certaines combinaisons, mais là encore, elles diffèrent d'une espèce à une autre. Les plasmalogènes ont une structure assez simple. Généralement, on observe en position sn-1 du glycérol un AGS, l'acide palmitique le plus souvent et parfois l'acide stéarique. La position sn-2 du glycérol est occupée par un AGPI, tels que : le 22 : 6n-3 et 22 : 5n-6 [24,27]. Les diacylglycérophospholipides sont plus complexes. En plus de combinaisons assez classiques, les spermatozoïdes d'espèces différentes peuvent contenir une proportion plus ou moins importante d'associations atypiques.

Généralement, la PC est particulièrement riche en AGPI à longue chaîne de carbone, notamment en AA, DHA et DPA suivant les espèces. La PE est associée à des AGPI à longue chaîne surtout sous sa forme plasmalogène. Sous sa forme di-acyle, la PE est liée, le plus souvent, aux acides oléique et linoléique, et à des AGS. La SM, la PS et le PI sont généralement associés à des AGS, notamment aux acides palmitique et stéarique (à titre d'exemple, les AGS constituent 80 à 97 % des AG liés à la SM chez le bouc et le sanglier [11,14]). La SM, la PS et le PI peuvent cependant être aussi associés à des acides gras insaturés (AGI), parfois à longue chaîne carbonée. Dans les spermatozoïdes de rat et de hamster, ils sont liés aux acides oléique, arachidonique et docosapentanoïque dans des proportions non négligeables [17,18]. Le DPG est, quant à lui, généralement associé aux 18 : 1 et 18 : 2 [15,17,18]. Dans la membrane spermatique

de hamster, la PC est composée à 90 % de quatre AG : le 16 : 0, le 18 : 0, le 22 : 5 et le 22 : 6. L'acide linoléique représentant 60 % des AG liés au DPG [18].

Stérols et spermatozoïde

Les stérols sont des molécules plus compactes et plus apolaires que les phosphoglycérides. Ils dérivent du perhydropentanophénanthrène, un hydrocarbure tétracyclique saturé. Les stérols sont des éléments essentiels des membranes cellulaires, ils représentent le deuxième constituant lipidique majeur des membranes spermatiques après les phospholipides. Le Chol (Fig. 2) est le stérol le plus répandu dans les membranes plasmiques, lysosomiales, endosomiales et golgiennes. Il constitue 30 % des lipides totaux des membranes plasmiques.

Les stérols augmentent l'ordre membranaire, et leur perte est une étape obligatoire dans la capacitation du spermatozoïde. La quantité de stérols dans la membrane est toujours à comparer à celle des phospholipides. Le rapport stérols/phospholipides, principalement cholestérol/phospholipides (Chol/PIs) est indicateur de la fluidité membranaire et est déterminant dans les phénomènes de capacitation et de réaction acrosomiques. Ce rapport fluctue entre 0,21 chez le hamster [18] et 1 chez l'homme [16]. Ce ratio peut être inférieur à 0,21 lorsqu'on analyse uniquement la membrane plasmique du spermatozoïde [9]. Le Chol est le principal stérol des spermatozoïdes dans de nombreuses espèces telles que le sanglier, le bouc et le rat [9,11,14].

On observe également dans le spermatozoïde d'autres formes de stérols tels que : le desmostérol, des stérols sulfatés ou encore des esters de stérols. Ces différentes formes sont le plus souvent en petite quantité dans le spermatozoïde, sauf chez le lapin [18] et le singe, où le desmostérol est présent en quantité supérieure à celle du Chol. Le desmostérol est un intermédiaire de synthèse du Chol, qui est rencontré plus particulièrement au niveau de la membrane du spermatozoïde mature. Fonctionnellement, desmostérol et Chol semblent jouer les mêmes rôles, (i.e. inhibition de la réponse des spermatozoïdes vis-à-vis de la progestérone [30]).

Remodelage lipidique des spermatozoïdes au cours de la maturation épидидymaire

Phospholipides

Les spermatozoïdes perdent une grande quantité de phospholipides (de 25 à 48 % selon les espèces), au cours de la maturation épидидymaire [24,26]. Cette perte ne touche pas uniformément toutes les classes de phospholipides. De plus, une classe de phospholipides donnée n'évolue pas de

la même manière au cours du transit dans l'épididyme selon l'espèce étudiée. D'une manière générale, les rapports PE/PC et SM/PC ont tendance à changer au cours du passage dans l'épididyme. Une diminution du rapport PE/PC est indicatrice d'une augmentation de la fluidité membranaire. À l'inverse, une augmentation du rapport SM/PC est indicatrice d'une diminution de la fluidité membranaire. L'évolution de ces deux rapports n'est pas forcément dans le même sens, de telle sorte que c'est la résultante de ces deux évolutions qui fixe la participation des phospholipides dans les changements de fluidité de la membrane plasmique des spermatozoïdes lors de leur descente épидидymaire.

Chez le bélier, la proportion relative de la PC augmente de 42 à 63 % entre la tête et la queue de l'épididyme, au détriment de la PE, de la PS et du PI. Ainsi, chez cette espèce, le rapport PE/PC est divisé par trois au cours de la maturation épидидymaire [13]. Dans la membrane plasmique des spermatozoïdes de rat, seul le pourcentage de DPG augmente au cours de la maturation épидидymaire, les proportions de PE, PC et SM diminuant quant à elles [10]. Une diminution du contenu en PC et en PE des spermatozoïdes au cours de la maturation épидидymaire est aussi la situation chez la souris [31]. Chez le bouc, seule la représentation membranaire de la PC augmente légèrement [15]. De manière générale, le rapport plasményl/phosphatidyl a tendance à augmenter au cours de la maturation épидидymaire, au point que les plasmalogènes (notamment la choline plasmalogène) deviennent les phospholipides majoritaires dans la membrane des spermatozoïdes matures [17].

AG

La maturation épидидymaire modifie particulièrement les proportions des AG majoritaires de la membrane des spermatozoïdes. On assiste également à une diminution de la saturation des AG membranaires [5,10,17], excepté au niveau de la membrane plasmique du spermatozoïde de bouc [15]. Cette diminution peut toucher à la fois les AGS et les AGI. D'une façon générale, plus le rapport AGS/AGI diminue, plus la fluidité de la membrane augmente. Dans plusieurs espèces, on assiste ainsi pendant la maturation épидидymaire à une augmentation de la proportion des AGPI tels que : les AA, DHA et DPA, le plus souvent au détriment de l'acide palmitique.

À titre d'exemple, chez le bélier, le DHA devient l'AG majeur dans la membrane plasmique du spermatozoïde mature, au détriment de l'acide palmitique [13]. Chez la souris, les AGS diminuent sensiblement, alors que les AGI (surtout DPA et DHA) augmentent au cours de la maturation épидидymaire accentuant ainsi la diminution du ratio AGS/AGI [31]. L'augmentation de la proportion relative en AGPI au cours de la maturation épидидymaire est liée à l'importance des plasmalogènes (et à leur stabilité)

dans la membrane spermatique, notamment à celle de la choline plasmalogène.

Stérols

Parmi les mammifères qui ont été étudiés, la quantité de stérols spermatiques a tendance à diminuer au cours de la maturation épидидymaire [10,13,17], à l'exception du bouc pour lequel cette quantité augmente [14]. À titre d'exemple, chez la souris, la quantité de Chol dans la membrane plasmique des spermatozoïdes décroît d'environ 65 % au cours de la maturation épидидymaire [31].

Comme évoqué précédemment, on assiste chez quelques espèces à un « remplacement » plus ou moins important du Chol de la cellule par une forme dérivée du Chol ou un autre stérol, généralement le desmostérol ou des formes estérifiées ou sulfatées du Chol. Ce remaniement permet de conserver une quantité globale de stérols invariable ou peu variable au cours de la maturation épидидymaire. Dans certains cas extrêmes, comme chez le lapin et le verrat, on assiste à un effondrement de la concentration de Chol. Cette chute est, cependant, complètement compensée par une hausse de la concentration de desmostérol et de Chol sulfate chez le verrat et partiellement compensée par le desmostérol et le cholesta-7, 24-diène-3-ol chez le lapin [11,18].

Fluidité membranaire

Comme évoqué précédemment, et ce, individuellement pour chaque classe majeure de lipides, la fluidité membranaire et son évolution seront les résultantes de plusieurs paramètres : les rapports PE/PC et SM/PC pour les phospholipides, le rapport AGS/AGI pour les AG et le rapport Chol/Pls. En ce qui concerne les AG, le degré d'insaturation et la longueur de la chaîne carbonée influent sur la température de point de fusion des AG et sur la fluidité des membranes dont ils entrent dans la composition. La température de transition est d'autant plus élevée que la chaîne carbonée est longue et le nombre d'insaturations (en *cis*) est bas [21]. Ainsi, les AGS, notamment à longue chaîne carbonée, sont des éléments rigidifiants.

Le Chol est un élément stabilisant (donc rigidifiant) de la membrane par l'intermédiaire de son noyau tétracyclique rigide qui interagit avec les chaînes hydrocarbonées des lipides avoisinants. Des rapports Chol/Pls et AGS/AGI élevés sont donc indicateurs de rigidité membranaire. Certains phospholipides possèdent également un caractère rigidifiant, tels que la PE et la SM. Ces deux types de phospholipides sont habituellement composés d'AGS chez les mammifères, alors que la PC est essentiellement composée d'AGI. L'augmentation des rapports PE/PC et SM/PC au cours de la maturation indique alors une diminution de la fluidité et une élévation de la température de transition de phase [24].

D'une façon générale, la membrane spermatique de nombreuses espèces a tendance à se fluidifier au cours de la maturation épидидymaire [32,33], à l'exception des gamètes du bouc [34]. En effet, des mesures d'anisotropie de fluorescence sur des fragments purifiés de membranes plasmiques de spermatozoïdes issus de la tête et de la queue de l'épididyme de cette espèce démontrent une rigidification membranaire. Ce résultat, pourtant contradictoire avec l'évolution des composants lipidiques des membranes des gamètes de beaucoup d'autres espèces de mammifères, est cependant en accord avec l'analyse de la composition lipidique de ces membranes de spermatozoïdes de bouc, qui indique une augmentation des rapports Chol/Pls et AGS/AGI entre les régions proximale et distale de l'épididyme [14].

Asymétrie membranaire

Autre niveau de complexité à prendre en compte, l'hétérogénéité de composition lipidique entre les deux couches (externe et interne) de la bicouche lipidique qui constitue une membrane plasmique. La composition de ces deux couches membranaires est relativement bien connue chez un petit nombre d'espèces, notamment chez le bouc et le bélier [34,35]. La PC et la SM, dans ces deux espèces, sont plutôt localisées dans la couche externe de la membrane. La PE est trouvée préférentiellement dans la couche interne chez le bouc, alors que chez le bélier, elle est distribuée uniformément dans les deux couches membranaires, tout comme la PS et le PG. Chez le bélier, l'acide palmitique (16 : 0) est le principal AG dans les deux couches de la membrane. Le PI et le DPG représentent les phospholipides majeurs de la couche interne alors que pour le bouc, c'est la PE qui prédomine. Enfin, on trouve généralement toujours plus d'AGI dans la couche externe de la membrane plasmique, quel que soit le stade de la maturation du spermatozoïde [15].

Ces différences de composition lipidique entre les couches interne et externe de la membrane plasmique des gamètes sont difficiles à évaluer avec précision. De même, il est difficile d'apprécier les répercussions fonctionnelles de telles différences, si ce n'est en termes de possibilités de mouvements de protéines entre les couches externe et interne de la membrane plasmique et donc d'impacts probables sur des mécanismes de transduction de signaux, impliquant des protéines membranaires qui ne traversent pas complètement la bicouche lipidique.

Quelques mécanismes du remodelage lipidique épидидymaire

Les mécanismes expliquant la variation de la composition lipidique des gamètes mâles pendant leur trajet épидидymaire sont peu connus. Cependant, on peut citer les rôles joués par les enzymes de type phospholipase, les espèces oxygénées

réactives (EORs) et des échanges probables de lipides entre les gamètes et des vésicules de sécrétion apoclines riches en lipides et présentes dans le fluide épидидymaire.

Remodelage enzymatique

Les phospholipides peuvent être éliminés de la membrane par l'intervention d'enzymes de type phospholipases, essentiellement C ou A2. Endogènes ou apportées par le fluide, leur activité est régulée par des facteurs épидидymaires encore non déterminés. Si le rôle des phospholipases commence à être mieux cerné autour de la capacitation, il n'en est pas de même en ce qui concerne leur activité pendant la phase de maturation épидидymaire. Une partie importante de leur action semble être dirigée vers le déshabillage de la membrane plasmique spermatique de protéines ancrées par des intermédiaires lipidiques. Résumées à cela, les phospholipases ne constituent donc pas des acteurs majeurs dans les changements lipidiques des spermatozoïdes durant leur descente épидидymaire.

Remodelage par peroxydation

Les lipides de la membrane des gamètes peuvent être également peroxydés. Ce mécanisme touche en premier les AGI, car beaucoup moins stables, puis on observe rapidement une réaction en chaîne qui provoque la rigidification de la membrane pouvant aller jusqu'à sa rupture. Dans l'épididyme, cette peroxydation est limitée par plusieurs systèmes anti-oxydants, primaires et secondaires. Parmi les défenses primaires, la triade catalytique ubiquiste chez les eucaryotes aérobies SOD-GPX-Catalase (Superoxyde dismutase-Glutathion peroxydase-Catalase) joue son rôle protecteur contre les effets délétères de l'attaque radicalaire. Dans le fluide épидидymaire de la queue de l'épididyme, la superoxyde dismutase (SOD3) catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène [36]. Ce composé est ensuite éliminé par l'action des glutathions peroxydases (GPXs) et de la catalase, cette dernière intervenant néanmoins très peu dans l'épididyme de la plupart des mammifères [37,38]. Un signe d'une protection accrue des gamètes stockés dans la queue de l'épididyme contre la peroxydation lipidique est donné par la présence d'une GPX sécrétée, spécifique à ce tissu, la GPX5 accumulée en quantité importante dans le fluide épидидymaire [37-39]. Les GPXs sont particulièrement représentées dans l'environnement épидидymaire [37]. Outre leur rôle primaire de « scavenger » d'espèces oxygénées réactives (en particulier vis-à-vis de H₂O₂), les GPXs sont les seuls enzymes pouvant prendre en charge des molécules complexes peroxydées comme les hydroperoxydes de phospholipides et ainsi corriger certains des dommages oxydatifs causés par l'H₂O₂ sur les phospholipides membranaires. La PHGPX ou GPX4, la GPX spécifique des hydroperoxydes de

phospholipides, et la GPX5 dont on soupçonne qu'elle aussi peut recycler des composés peroxydés complexes, sont ainsi particulièrement bien représentées sur le gamète mâle et dans l'épithélium épидидymaire [37,38].

Les actions des phospholipases et des enzymes antioxydantes peuvent être complémentaires : par exemple, la phospholipase A2 clive les AG hydroperoxydes de la membrane permettant aux GPXs d'agir de manière optimale [16].

Remodelage vésiculaire

Un troisième volet non négligeable du remodelage lipidique des spermatozoïdes au cours de la maturation épидидymaire est assuré par le biais de vésicules lipidiques issues de processus de sécrétion apocrines de l'épithélium épидидymaire. Ces vésicules lipidiques (aussi dénommées génériquement « aposomes » et plus particulièrement « épидидymosomes » pour celles dérivant de l'épithélium épидидymaire) sont surtout produites par l'épithélium de la tête de l'épididyme (pour revues voir [40,41]). Ces vésicules ont été décrites dans le plasma séminal de plusieurs espèces de mammifères.

La composition lipidique de ces épидидymosomes est particulière, et elle évolue durant le trajet épидидymaire d'une façon complémentaire à l'évolution lipidique des membranes des spermatozoïdes [31]. En effet, chez la souris, espèce pour laquelle ces structures ont été étudiées, la composition lipidique de ces vésicules évolue durant le trajet épидидymaire, de telle sorte que le ratio SM/PC est triplé, le ratio Chol/PI est doublé et les AGI diminuent. Ces changements dans la composition lipidique des épидидymosomes traduisent une rigidification de ces structures au cours de la maturation épидидymaire [31].

Il n'y a pas, à ce jour, d'évidence d'échanges directs de lipides entre épидидymosomes et spermatozoïdes. Cependant, l'évolution antiparallèle des compositions lipidiques de ces deux entités durant le trajet épидидymaire laisse supposer que cela pourrait être le cas [31]. Seuls des transferts de protéines ne possédant pas de signaux peptidiques de sécrétion ont été montrés entre ces structures vésiculaires lipidiques et les gamètes mâles [42,43]. La plupart de ces protéines, associées aux aposomes et ensuite aux gamètes, le sont via l'intermédiaire d'une ancre lipidique de type glycosyl phosphatidylinositol (ancre GPI). Plusieurs protéines produites par le tractus génital mâle, notamment des facteurs protéiques appartenant au système du complément associé aux réponses immunes [44], sont transférées au gamète de cette façon. L'exemple le plus intéressant est celui de CD52 (pour *cluster of differentiation 52*), également appelé *major specific antigen*, SmemG, RB7, HE5, CE5, EP-1 ou *24kDa-related proteins* dans différentes espèces. Cette protéine n'est pas synthétisée par le gamète, elle est sécrétée majoritairement dans le segment distal de l'épididyme et incorporée au gamète [45]. CD52 est associée aux vésicules lipidiques de sécrétion apocrines

« épидидymosomes ou aposomes » identifiées dans le fluide séminal chez plusieurs espèces [46]. Cette localisation particulière a permis de suggérer, assez tôt, que ces structures vésiculaires sont très probablement des intermédiaires dans le transfert de protéines à ancre GPI des épithélia vers la membrane plasmique des gamètes (Fig. 4). Plus récemment, des protéines appartenant à la famille des déshydrogénases-réductases à courte chaîne, telles que P25b et P26h, ont toutes les deux été, de même, localisées au niveau de vésicules épидидymaires de sécrétion apocrine et sur les spermatozoïdes matures, respectivement chez le taureau et le hamster. Ces protéines sont toutes deux associées aux membranes par le biais d'une ancre GPI et sont transférées des vésicules sécrétées par l'épididyme vers les spermatozoïdes par des mécanismes encore inconnus reposant sur des échanges protéiques-lipidiques ou/et des fusions entre les vésicules et les gamètes [47-50]. Ces exemples soulignent la participation de ces vésicules lipidiques de sécrétion apocrines au transfert de protéines et probablement de lipides de l'épithélium épидидymaire vers la membrane plasmique des gamètes.

Chez les mammifères, on observe souvent une localisation très précise des protéines ancrées par un GPI, formant des microdomaines ou radeaux lipidiques (*raft*) à la surface cellulaire, notamment dans les cellules nerveuses [51]. Ces microdomaines membranaires sont généralement constitués de lipides rigidifiants, tels que le Chol et la SM contribuant à leur stabilisation [52]. De tels microdomaines membranaires particuliers ont été mis en évidence sur les spermatozoïdes et aussi sur les épидидymosomes des mammifères par le biais de leur résistance intrinsèque aux détergents (*detergent-resistant membranes domains* [DRM]). Il semblerait qu'il y ait une conservation de localisation membranaire pour certaines protéines entre ces deux structures. En d'autres termes, des protéines localisées dans des DRM sur les épидидymosomes seraient transférées dans des DRM sur les gamètes mâles [43].

Ces observations renforcent encore l'idée que les vésicules lipidiques de sécrétions apocrines de l'épithélium épидидymaire sont des régulateurs importants de l'hétérogénéité lipidique et de la dynamique lipidique des membranes des gamètes mâles. Ces domaines membranaires de compositions lipidiques et protéiques particulières créent à la surface des gamètes des hétérogénéités de fluidité que l'on peut apprécier par les techniques de FRAP (*fluorescent recovery after photobleaching*), RPE (résonance paramagnétique électronique) et/ou anisotropie de fluorescence. Ces techniques complexes permettent d'apprécier les notions de liberté de rotation des lipides, les mesures de mouvements latéraux de lipides dans la membrane. Elles font apparaître ainsi l'existence de véritables barrières de diffusion créées par la juxtaposition et le maintien de domaines lipidiques distincts sur la membrane plasmique du gamète mâle [32]. Cette géographie lipidique complexe est affinée tout le long de la maturation posttesticulaire des gamètes mâles.

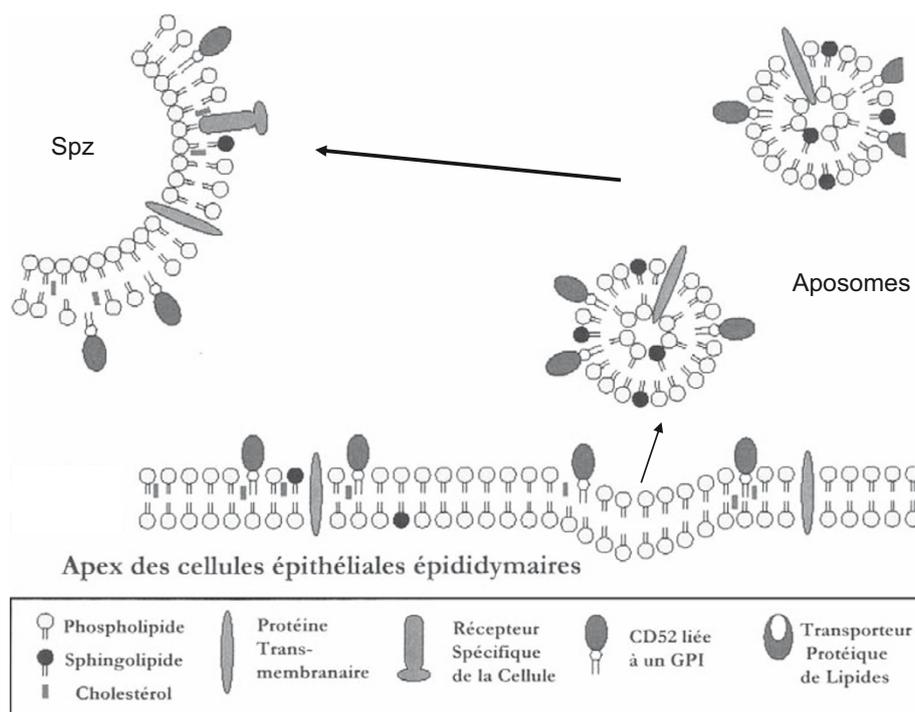


Fig. 4 Modèle de transport apocrine de protéines et d'échanges lipidiques entre les aposomes (épididymosomes) sécrétés par l'épithélium épидидymaire et la membrane des spermatozoïdes (modifié, d'après Kirchoff [53])

Conclusion

L'étude des événements qui accompagnent la maturation posttesticulaire épидидymaire des gamètes mâles chez les mammifères a, ces dernières années, surtout mis l'accent sur le rôle joué par les diverses sécrétions protéiques de l'épithélium épидидymaire dans l'acquisition des potentialités fécondantes des spermatozoïdes. De même, sachant les rôles clés des composés glucidiques associés aux protéines dans les phénomènes d'interactions cellulaires (et donc dans la rencontre gamétique), beaucoup de recherches se sont intéressées aux modifications glucidiques (glycosylations, déglycosylations) qui accompagnent la maturation épидидymaire des gamètes mâles.

Il apparaît maintenant, de plus en plus clairement, que le volet lipidique est un aspect tout aussi essentiel de cette maturation gamétique. Pour preuve, les récentes descriptions d'infertilité associées à des invalidations géniques dans le modèle souris de gènes importants pour l'homéostasie lipidique, que ce soit dans l'environnement épидидymaire et/ou testiculaire.

Les variations complexes des différents constituants lipidiques présentées ci-dessus lors de la maturation épидидymaire des gamètes convergent pour la plupart des mammifères vers une augmentation de la fluidité membranaire des gamètes matures. Cette augmentation de fluidité sera accentuée ensuite dans les voies génitales femelles par la poursuite de la perte

de Chol, prérequis aux événements de signalisation qui accompagne la capacitation et la réaction acrosomique.

Le « challenge » maintenant est de comprendre les mécanismes mis en jeu dans l'environnement épидидymaire qui rend compte de ces modifications de lipides. Il s'agit dès lors d'identifier dans le fluide épидидymaire, sur les cellules épithéliales et sur les gamètes, les acteurs de l'homéostasie lipidique (transporteurs de stérols, d'AG et de phospholipides, récepteurs membranaires, etc.). Il sera de même important de décrypter le(s) rôle(s) joué(s) par les « épидидymosomes » et autres vésicules riches en lipides produites par l'épithélium épидидymaire dans ces mouvements de lipides et dans la définition d'un nouvel ordre lipidique membranaire sur le gamète mâle mature.

Références

1. Sinowatz F, Volgmayr JK, Gabius HJ, Friess AE (1989) Cytochemical analysis of mammalian sperm membranes. *Prog Histochem Cytochem* 19:1–74
2. Peterson RN, Russell LD (1985) The mammalian spermatozoon: a model for the study of regional specificity in plasma membrane organization and function. *Tissue Cell* 17:769–791
3. Adams CS, Johnson AD (1977) The lipid content of epididymal spermatozoa of *Rattus norvegicus*. *Comp Biochem Physiol B* 58:409–411
4. Evans JP, Kopf GS, Schultz RM (1997) Characterization of the binding of recombinant mouse sperm fertilin beta subunit to

- mouse eggs: evidence for adhesive activity via an egg beta1 integrin-mediated interaction. *Dev Biol* 187:79–93
5. Evans RW, Setchell BP (1979) Lipid changes in boar spermatozoa during epididymal maturation with some observations on the flow and composition of boar rete testis fluid. *J Reprod Fertil* 57:189–196
 6. Johnson LA, Gerrits RJ, Young EP (1969) The fatty acid composition of porcine spermatozoa phospholipids. *Biol Reprod* 1:330–334
 7. Poulos A, Brown-Woodman PD, White IG, Cox RI (1975) Changes in phospholipids of ram spermatozoa during migration through the epididymis and possible origin of prostaglandin F₂alpha in testicular and epididymal fluid. *Biochim Biophys Acta* 388:12–18
 8. Poulos A, White IG (1973) The phospholipid composition of human spermatozoa and seminal plasma. *J Reprod Fertil* 35:265–272
 9. Agrawal P, Magargee SF, Hammerstedt RH (1988) Isolation and characterization of the plasma membrane of rat cauda epididymal spermatozoa. *J Androl* 9:178–189
 10. Hall JC, Hadley J, Doman T (1991) Correlation between changes in rat sperm membrane lipids, protein, and the membrane physical state during epididymal maturation. *J Androl* 12:76–87
 11. Nikolopoulou M, Soucek DA, Vary JC (1985) Changes in the lipid content of boar sperm plasma membranes during epididymal maturation. *Biochim Biophys Acta* 815:486–498
 12. Parks JE, Arion JW, Foote RH (1987) Lipids of plasma membrane and outer acrosomal membrane from bovine spermatozoa. *Biol Reprod* 37:1249–1258
 13. Parks JE, Hammerstedt RH (1985) Development changes occurring in the lipids of ram epididymal spermatozoa plasma membrane. *Biol Reprod* 32:653–668
 14. Rana AP, Majumder GC, Misra S, Ghosh A (1991) Lipid changes of goat sperm plasma membrane during epididymal maturation. *Biochim Biophys Acta* 1061:185–196
 15. Rana AP, Misra S, Majumder GC, Ghosh A (1993) Phospholipid asymmetry of goat sperm plasma membrane during epididymal maturation. *Biochim Biophys Acta* 1210:1–7
 16. Alvarez JG, Storey BT (1995) Differential incorporation of fatty acids into and peroxidative loss of fatty acids from phospholipids of human spermatozoa. *Mol Reprod Dev* 42:334–346
 17. Aveladaño MI, Rotstein NP, Vermouth NT (1992) Lipid remodeling during epididymal maturation of rat spermatozoa. Enrichment in plasmenylcholines containing long-chain polyenoic fatty acids of the n-9 series. *Biochem J* 283(Pt 1):235–241
 18. Awano M, Kawaguchi A, Mohri H (1993) Lipid composition of hamster epididymal spermatozoa. *J Reprod Fertil* 99:375–383
 19. Touchstone JC, Alvarez JG, Levin SS, Storey BT (1985) Evidence for diplasmalogen as the major component of rabbit sperm phosphatidylethanolamine. *Lipids* 20:869–875
 20. Murray RK, Mayes PA, Granner DK, Rodwell WR (eds) (1999) *Harper's Biochemistry*. 24th ed, London.
 21. Shechter E (2000) Fluidité membranaire. In: Schecter E, Rossignol B (eds) *Biochimie et biophysique des membranes*. Aspects structuraux et fonctionnels. Masson, Paris, pp. 97–121
 22. Yeagle P (1982) The structure of biological membranes. In: Yeagle P (ed), *CRC Press, Boca Raton*, pp. 175–210
 23. Yeagle P (1993) *The membranes of cells*. Academic Press, San Diego
 24. Ladha S (1998) Lipid heterogeneity and membrane fluidity in a highly polarized cell, the mammalian spermatozoon. *J Membr Biol* 165:1–10
 25. Alberts B, Bray D, Lewis J, et al (1994) Membrane structure. Part. III, Chapter 10. In: *Molecular biology of the cell*. 3rd ed, Garland Publishing, New York, pp. 478–524
 26. Jones R (1998) Plasma membrane structure and remodeling during sperm maturation in the epididymis. *J Reprod Fertil Suppl* 53:73–84
 27. Selivonchick DP, Schmid PC, Natarajan V, Schmid HH (1980) Structure and metabolism of phospholipids in bovine epididymal spermatozoa. *Biochim Biophys Acta* 618:242–254
 28. Wolf DE, Lipscomb AC, Maynard VM (1988) Causes of nondiffusing lipid in the plasma membrane of mammalian spermatozoa. *Biochemistry* 27:860–865
 29. Ollero M, Powers RD, Alvarez JG (2000) Variation of docosahexaenoic acid content in subsets of human spermatozoa at different stages of maturation: implications for sperm lipoperoxidative damage. *Mol Reprod Dev* 55:326–324
 30. Cross NL (1996) Human seminal plasma prevents sperm from becoming acrosomally responsive to the agonist, progesterone: cholesterol is the major inhibitor. *Biol Reprod* 54:138–145
 31. Rejraji H, Sion B, Prensier G, et al (2006) Lipid remodeling of murine epididymosomes and spermatozoa during epididymal maturation. *Biol Reprod* 74:1104–1113
 32. Christova Y, James P, Mackie A, et al (2004) Molecular diffusion in sperm plasma membranes during epididymal maturation. *Mol Cell Endocrinol* 216:41–46
 33. James PS, Wolfe CA, Ladha S, Jones R (1999) Lipid diffusion in the plasma membrane of ram and boar spermatozoa during maturation in the epididymis measured by fluorescence recovery after photobleaching. *Mol Reprod Dev* 52:207–215
 34. Rana AP, Majumder GC (1990) Changes in the fluidity of the goat sperm plasma membrane in transit from caput to cauda epididymis. *Biochem Int* 21:797–803
 35. Hinkovska VT, Dimitrov GP, Koumanov KS (1986) Phospholipid composition and phospholipid asymmetry of ram spermatozoa plasma membranes. *Int J Biochem* 18:1115–1121
 36. Perry AC, Jones R, Hall L (1993) Isolation and characterization of a rat cDNA clone encoding a secreted superoxide dismutase reveals the epididymis to be a major site of its expression. *Biochem J* 293(Pt 1):21–25
 37. Drevet JR (2000) Glutathione peroxidases expression in the mammalian epididymis and vas deferens. In: Francavilla F, Francavilla S, Forti G (eds) *Andrology*. L'Aquila, Italy, pp. 427–461
 38. Drevet JR (2006) The antioxidant glutathione peroxidase family and spermatozoa: a complex story. *Mol Cell Endocrinol* 250:70–79
 39. Ghyselinck NB, Dufaure I, Lareyre JJ, et al (1993) Structural organization and regulation of the gene coding for the androgen-dependent glutathione peroxidase-like protein specific to the mouse epididymis. *Mol Endocrinol* 7:258–272
 40. Rejraji H, Drevet JR (2004) Sécrétions apocrines dans le tractus génital mâle : rôles potentiels dans la maturation des spermatozoïdes. *Andrologie* 14:22–33
 41. Saez F, Frenette G, Sullivan R (2003) Epididymosomes and prostasomes: their roles in posttesticular maturation of the sperm cells. *J Androl* 24:149–154
 42. Frenette G, Lessard C, Sullivan R (2002) Selected proteins of "prostasome-like particles" from epididymal cauda fluid are transferred to epididymal caput spermatozoa in bull. *Biol Reprod* 67:308–313
 43. Girouard J, Frenette G, Sullivan R (2008) Seminal plasma proteins regulate the association of lipids and proteins within detergent-resistant membrane domains of bovine spermatozoa. *Biol Reprod* 78:921–931
 44. Rooney IA, Heuser JE, Atkinson JP (1996) GPI-anchored complement regulatory proteins in seminal plasma. An analysis of their physical condition and the mechanisms of their binding to exogenous cells. *J Clin Invest* 97:1675–1686
 45. Kirchoff C, Pera I, Derr P, et al (1997) The molecular biology of the sperm surface. Post-testicular membrane remodeling. *Adv Exp Med Biol* 424:221–232
 46. Rooney IA, Atkinson JP, Krul ES, et al (1993) Physiologic relevance of the membrane attack complex inhibitory protein

- CD59 in human seminal plasma: CD59 is present on extracellular organelles (prostasomes), binds cell membranes, and inhibits complement-mediated lysis. *J Exp Med* 177:1409–1420
47. Gaudreault C, El Alfy M, Légaré C, Sullivan R (2001) Expression of the hamster sperm protein P26h during spermatogenesis. *Biol Reprod* 65:79–86
 48. Gaudreault C, Montfort L, Sullivan R (2002) Effect of immunization against recombinant P26h on fertility rates. *Reproduction* 123:307–313
 49. Gaudreault C, Légaré C, Bérubé B, Sullivan R (1999) Hamster sperm protein, p26h: a member of the short-chain dehydrogenase-reductase superfamily. *Biol Reprod* 61:264–273
 50. Légaré C, Thabet M, Picard S, Sullivan R (2001) Effect of vasectomy on P34H messenger ribonucleic acid expression along the human excurrent duct: a reflection on the function of the human epididymis. *Biol Reprod* 64:720–727
 51. Madore N, Smith KL, Graham CH, et al (1999) Functionally different GPI proteins are organized in different domains on the neuronal surface. *Embo J* 18:6917–6926
 52. Rietveld A, Simons K (1998) The differential miscibility of lipids as the basis for the formation of functional membrane rafts. *Biochim Biophys Acta* 1376:467–469
 53. Kirchhoff C (1998) Molecular characterization of epididymal proteins. *Rev Reprod* 3:86–95