

Contraception épидидymaire : état des recherches et perspectives

Joël R. DREVET

CNRS UMR 6547 GEEM, Université Blaise Pascal, Clermont 2, Aubière

RESUME

Le développement de nouvelles stratégies contraceptives est un enjeu économique important. L'épididyme, siège de la maturation post-testiculaire des spermatozoïdes est depuis peu sous les feux de la recherche comme un organe cible pour le développement de nouvelles approches contraceptives chez les mammifères. En effet, cet organe dans lequel transitent et sont stockés les spermatozoïdes (chez la plupart des mammifères) est, de par ses différentes fonctions un organe clé, dans l'acquisition du pouvoir fécondant des gamètes mâles. Même si, l'on est encore loin d'appréhender toute la complexité des phénomènes de sécrétion et de ré-absorption qui conduisent, au remodelage des spermatozoïdes et à l'acquisition de ses aptitudes à reconnaître et à féconder l'ovule, des avancées importantes ont été réalisées quant à la physiologie de l'épididyme des mammifères. Après un bref rappel des activités de l'épithélium épидидymaire, un aperçu sera donné des voies de recherches actuellement privilégiées pour l'éventuel développement de futures stratégies contraceptives post-testiculaires. Les cas d'infertilité rencontrés dans la récente génération de différents modèles de souris transgéniques seront particulièrement mis en exergue.

I. INTRODUCTION

La première question que l'on peut se poser avant toute chose est : y-a-t-il un besoin pour de nouvelles méthodes contraceptives ?

Les prévisionnistes estiment en fonction des ressources et des zones habitables de la planète qu'il existe une limitation à la croissance démographique que l'on s'accorde à fixer autour de 8 à 8,5 milliards d'habitants. La population mondiale, aujourd'hui estimée à 6 milliards d'individus, est supposée franchir cette barre des 8 milliards d'individus d'ici 2050, avec le plus fort de cet essor démographique dans les régions les moins développées et déjà les plus peuplées. Sur les 3 milliards de femmes constituant la population mondiale, aujourd'hui, la répartition est de 60% en Asie et 13% en Afrique, contre respectivement 13%, 9% et 5% en Europe, Amérique latine et Amérique du Nord. Il est estimé par ailleurs que dans les vingt prochaines années le nombre de femme en âge de procréer (càd âgées de 15 à 49 ans) augmentera de 30% passant de 1,4 milliards à 1,8 milliards. Les prévisions ne sont que des extrapolations du passé et des tendances actuelles et, par nature, elles sont donc incertaines. Cependant, certaines prévisions sont moins incertaines que d'autres. Le constat est donc clair et ainsi qu'il avait été énoncé par John F. Kennedy à l'occasion d'une conférence sur la population mondiale « *Unless man halts population growth, population growth will halt man* ».

En termes de contraception, 40% des couples ne pratiquent aucune contraception. Les principales raisons sont d'ordre culturel, religieux ou liées à des problèmes d'information et des problèmes financiers. Même dans les pays développés, le taux d'acceptation des contraceptifs hor-

Mots clés : épидидyme, contraception, spermatozoïdes, modèles transgéniques, phénotype épидидymaire

Correspondance :

Pr Joël DREVET - CNRS UMR 6547 GEEM, Epididyme & Maturation des Gamètes, Université Blaise Pascal, Clermont 2, 24, avenue des Landais, 63177 Aubière Cedex. France - Tel 04.73.40.74.13 - Fax 04.73.40.52.45 - Email joel.drevet@geem.univ-bpclermont.fr

monaux oraux plafonne autour de 20%. Pour être efficace, les méthodes contraceptives hormonales sont basées sur une application continue (prise journalière ou implant permanent) alors que les femmes ne sont fertiles que quelques jours par mois. Selon l'OMS, les naissances non désirées et les avortements représentent 50% de toutes les grossesses dans le monde. Par année, cela représente environ 220 millions de grossesses dont 38% ne sont pas désirées et 22% finissent par une IVG. Aux seuls Etats-Unis, presque la moitié des 6,3 millions de grossesses annuelles est le fait de grossesses non désirées (1,4 million se terminant par un avortement et 1,3 million donnant lieu à des naissances non désirées) [source : Alan Guttmacher Institute, 1999]. Toujours aux Etats-Unis, presque la moitié des femmes ont eu recours à au moins un avortement durant leur période féconde [38]. Enfin, de par le monde on estime à plus de 200 000 le nombre de femmes mortes à la suite d'avortements.

Ces chiffres parlent d'eux-mêmes et soulignent selon que l'on soit industriel ou chercheur/professionnel de santé qu'il y a un marché/besoin pour de nouvelles techniques contraceptives et qu'il faut augmenter l'éventail des moyens contraceptifs à la disposition des femmes et des hommes. Les recherches se poursuivent donc vers l'élaboration de nouvelles stratégies de contrôle de la fertilité chez la femme et chez l'homme. En complément des méthodes hormonales féminines actuelles, l'accent est porté sur l'induction de changements locaux de l'ovaire par une approche non hormonale. En effet, l'action des contraceptifs hormonaux oraux sur les centres cérébraux régulateurs des fonctions ovariennes entraîne des effets sur tous les organes répondants aux hormones sexuelles (organes reproducteurs et organes non reproducteurs). Une approche locale et non-hormonale comme, par exemple, l'induction de modifications dans le dialogue permanent qui s'instaure au sein de l'ovaire entre le follicule en croissance et, les cellules folliculaires qui l'entourent aurait, l'avantage de ne pas modifier les taux d'hormones circulantes. De tels procédés n'auraient donc pas d'effets systémiques et resteraient très physiologiques puisque le devenir naturel de 99% des ovocytes dans l'ovaire est de ne pas ovuler. Les recherches se tournent aussi vers le contrôle des événements post-fécondation en particulier, le contrôle de l'implantation puisque là aussi de façon physiologique 70% des oeufs fécondés ne s'implantent pas. Enfin, les recherches visent aussi à diversifier l'offre de dispositifs/moyens contraceptifs : pilules, minipilules, pilules du lendemain, spermicides, stérilets, diaphragmes, éponges,...

Face à cet éventail de moyens féminins, il est clair qu'à l'heure actuelle l'essentiel des méthodes de contraception passe par la femme. En effet, à ce jour il n'existe pas de contraceptif mâle qui soit réversible et efficace. Cependant, selon l'OMS, en dépit de cette absence de moyens à la disposition des hommes, un tiers de toutes les méthodes contraceptives utilisées dans le monde reposent sur une participation masculine *via* l'usage des préservatifs, le recours à la vasectomie et le *coïtus interruptus*. Ceci souligne la part active et grandissante de l'homme dans le

contrôle des naissances. Le préservatif connaît une faible acceptation, mais reste un acteur essentiel dans le schéma contraceptif à cause de sa double action : contraceptif mâle simple, fiable et peu onéreux et moyen de lutte efficace contre les MST. Ces caractéristiques (simplicité, faible coût) et le caractère incontournable de cet accessoire de prévention dans les grandes épidémies actuelles (HIV) ont d'ailleurs constitué et, continuent à constituer, un frein au développement de nouveaux moyens contraceptifs.

Selon l'OMS, environ 60 millions d'hommes dans le monde ont eu recours à la vasectomie. Ce chiffre n'est pas négligeable puisqu'il correspond à peu près au nombre d'utilisatrices de contraceptifs oraux. La vasectomie a cependant connu un succès mitigé dans les pays développés en raison de sa réversibilité problématique. En effet, dans environ 50% des cas, la réversion de vasectomie, quelle que soit la qualité de l'acte chirurgical, ne s'accompagne pas d'un rétablissement de la fertilité. Les raisons sont multiples et non exclusives les unes des autres, les principales étant : l'apparition d'anticorps anti-gamètes chez l'homme vasectomisé, et une dé-différenciation irréversible des conduits génitaux en l'absence de flux testiculo/épididymaire.

Devant cette offre très limitée de moyens contraceptifs masculins les recherches se sont tournées vers l'élaboration de nouvelles stratégies contraceptives mâles. Le challenge est toujours le même ; un contraceptif qu'il soit mâle ou femelle obéit au cahier des charges suivant. Il doit être acceptable par les deux partenaires, efficace, réversible, agir le plus rapidement possible et ce, sans effet secondaire. Cependant, un contraceptif mâle doit faire face à une situation biologique particulière qui est, de contrecarrer la production de 70 millions de spermatozoïdes par jour. Au moins cinq directions distinctes sont poursuivies à l'heure actuelle. En clair, il s'agit soit d'inhiber la production de spermatozoïdes, d'interférer avec les fonctionnalités des spermatozoïdes, d'interrompre le transport des spermatozoïdes, de prévenir la reconnaissance ovocytaire et d'empêcher la pénétration d'un spermatozoïde dans un ovocyte.

D'une façon logique, étant donné la similitude du contrôle des fonctions gonadiques chez la femme comme chez l'homme, et les acquis dans le domaine du contrôle hormonal de la fertilité chez la femme, le terrain hormonal mâle a été exploré en priorité. En effet, les hormones hypothalamo-hypophysaires (LH, FSH), chez l'homme comme chez la femme, gouvernent les fonctions gonadiques. Donc en théorie, une modification hormonale systémique doit s'accompagner chez l'homme de changements dans les fonctions testiculaires ; c'est-à-dire : dans la production des spermatozoïdes. Cependant, la chose n'est pas si simple chez l'homme. En effet, la production continue d'un nombre élevé de spermatozoïdes (70 millions/jour) est un tout autre challenge si l'on compare avec la maturation d'un oeuf tous les mois chez la femme. Cette intense production gamétique mâle est sous le contrôle permanent des gonadotropines et des doses importantes de stéroïdes sont nécessaires pour perturber les fonctions testiculaires chez l'homme comparé à ce qui est nécessaire pour prévenir l'ovulation chez la femme. Par ailleurs, les effets secondaires

(impuissance, baisse de la libido) associés à l'inhibition des fonctions testiculaires (production des spermatozoïdes mais aussi de la testostérone) limitent l'intérêt de l'approche hormonale systémique pour le contrôle de la fertilité chez l'homme. D'autre part, la lenteur de la mise en oeuvre de cette approche contraceptive, la production des gamètes mâles se faisant sur une période de 60 à 70 jours chez l'homme, est une limitation supplémentaire. Malgré ces contraintes, l'approche hormonale reste, à ce jour, la voie la plus avancée et la plus explorée pour le développement de contraceptifs mâles.

A côté de cette approche qui cible le testicule, siège de la production des spermatozoïdes, d'autres approches se tournent vers les événements post-méiotiques et post-testiculaires de la formation des gamètes. En effet, si les spermatozoïdes qui quittent le testicule sont structurellement différenciés, ils ne sont cependant pas fonctionnellement matures. Cette immaturité se manifeste en particulier par leur incapacité à se mouvoir et leur incapacité à reconnaître et à pénétrer un ovocyte. Ces aptitudes cruciales pour la fécondation sont acquises au cours du trajet des spermatozoïdes dans les voies génitales mâles. Le plus gros de cette maturation post-testiculaire des spermatozoïdes est effectué au sein de l'épididyme qui relie le *rete testis* et les canaux éfferents au canal déférent.

Il y a plusieurs avantages à considérer l'épididyme comme un organe cible pour le développement de stratégies contraceptives. Le plus important d'entre eux est de ne pas interférer avec la spermatogenèse et la production de testostérone puisque l'on ne cherchera ici qu'à inhiber les fonctionnalités des gamètes. On peut espérer une action plus rapide en termes de contraception puisque les maturations épididymaires essentielles pour l'acquisition du pouvoir fécondant sont acquises rapidement par les spermatozoïdes (10 jours environ de transit épididymaire). La grande complexité des modifications subies par les spermatozoïdes au cours de leur maturation épididymaire, et pour certaines de ces modifications leur spécificité et leur restriction tissulaire offrent un large éventail de cibles pour le développement de drogues modifiant la fertilité. Il y a cependant un écueil important, c'est la faible connaissance que nous avons de la physiologie de l'épididyme et de la mécanique moléculaire qui président aux modifications épididymaires des spermatozoïdes. Longtemps considéré comme un tube sans intérêt par la communauté scientifique, l'épididyme sort depuis peu de l'ombre. Preuve en est avec la constitution en 1998 d'un réseau international d'étude de l'épididyme des mammifères, le réseau AMPPA 1 (Application of Molecular Pharmacology for Posttesticular Activity –Phase 1) sous l'égide des fondations Ernst Schering Research (ESRF : Ernst Schering Research Foundation, Berlin) et Rockefeller (New York). Ce réseau a été le premier groupement de recherche public/privé qui, dans un premier temps, s'est attaché à accélérer les recherches fondamentales engagées dans la compréhension de la physiologie de l'épididyme (voir Figure 1). Les premiers buts fixés ont été de produire des outils moléculaires qui pourraient permettre des analyses à grande échelle des fonctions épididymaires.

C'est ainsi que durant le premier contrat ont été produites des lignées de cellules épithéliales épididymaires en cultures : lignées immortalisées par l'expression d'un oncogène transformant et, des lignées de cellules spontanément immortalisées [7, 63, 67]. Ces outils cellulaires étaient à ce jour non disponibles pour l'épididyme des mammifères et l'absence de tels outils a considérablement freiné les recherches concernant les gènes et protéines exprimées dans l'épididyme. Durant ce premier contrat ont aussi été générés et exploités des modèles de souris transgéniques qui permettent d'appréhender certaines des fonctions épididymaires et d'ouvrir la voie vers d'éventuelles applications contraceptives. Arrivé à son terme en février 2002 le réseau AMPPA a été reconstitué en Juillet 2003 avec le support de ESRF et du programme CONRAD (Contraception Research and Development).

II. L'EPIDIDYME UN ORGANE MAJEUR POUR LA FERTILITE OU UN SIMPLE TUYAU ?

Chez l'homme, l'épididyme est un tube, d'une longueur qui avoisine les 7 mètres, très pelotonné, accolé à la face interne du testicule. Les spermatozoïdes qui sortent du testicule *via le rete testis* et les canaux éfferents entrent dans le canal épididymaire, et sous l'action du flux et des contractions péristaltiques de l'organe, progressent le long de ce canal avant d'être stocké dans sa partie terminale. Chez l'homme, à la différence de beaucoup d'autres mammifères, le stockage épididymaire des spermatozoïdes est faible, le canal déférent étant plutôt impliqué dans ce stockage [10]. L'épididyme est entouré d'une capsule conjonctive fibreuse et le tube épididymaire d'une assise de muscles lisses. Anatomiquement l'organe a été divisé en trois régions, la tête, le corps et la queue épididymaires aussi dénommées *caput*, *corpus* et *cauda*, aisément détectables *de visu*. A cette subdivision anatomique est associée une subdivision plus fine de l'organe qui repose sur plusieurs critères [1, 2] (voir Figure 2) :

- la présence de cloisons conjonctives (septa) qui délimitent des territoires à l'intérieur essentiellement de la tête de l'organe,
- des différences dans la morphologie, dans la nature et dans la distribution des cellules qui bordent le canal épididymaire (cellules principales, cellules apicales, cellules claires, cellules en halo, cellules basales),
- des différences fonctionnelles (sécrétions, réabsorptions, stockage).

A l'observation, l'épididyme apparaît donc comme un organe segmenté, régionalisé anatomiquement, histologiquement et aussi, fonctionnellement. En effet, il est vite apparu qu'au cours de leur trajet dans l'épididyme, les spermatozoïdes acquièrent progressivement leur pouvoir fécondant et leur aptitude à se mouvoir. Cette acquisition séquentielle de propriétés fonctionnelles est liée aux activités séquentielles de sécrétion et de réabsorption qui ponctuent l'épididyme de la tête vers la queue de l'organe. Ces événements, d'une grande complexité, que l'on commence seu-

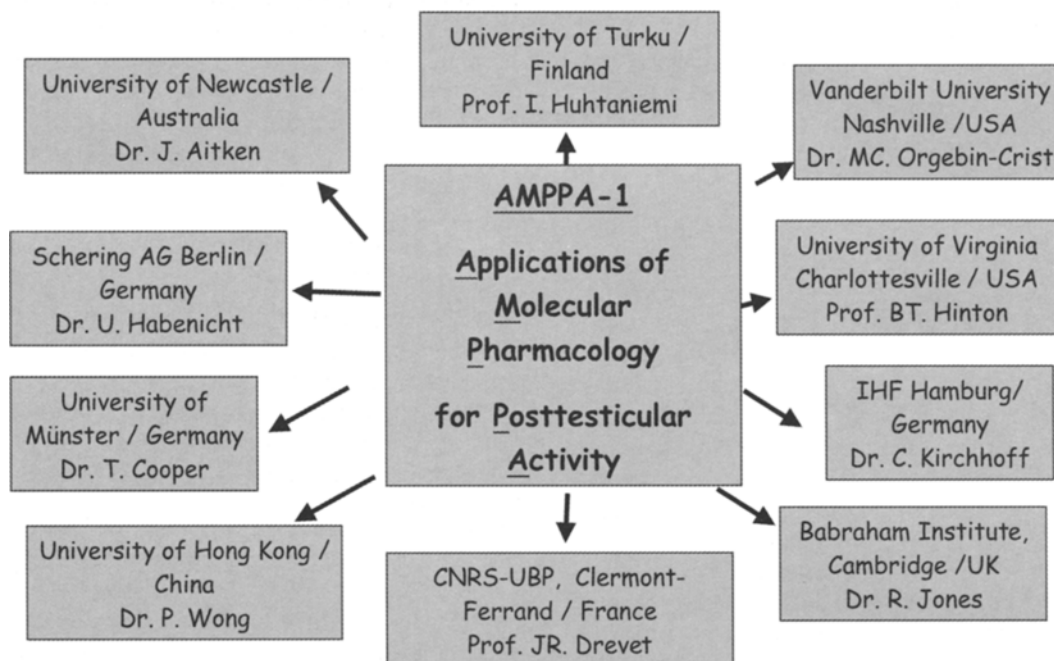


Figure 1 : Organisation du réseau de recherche public/privé AMPPA-1 parrainé par les fondations Ernst Schering Research (Berlin) et Rockefeller (New York).

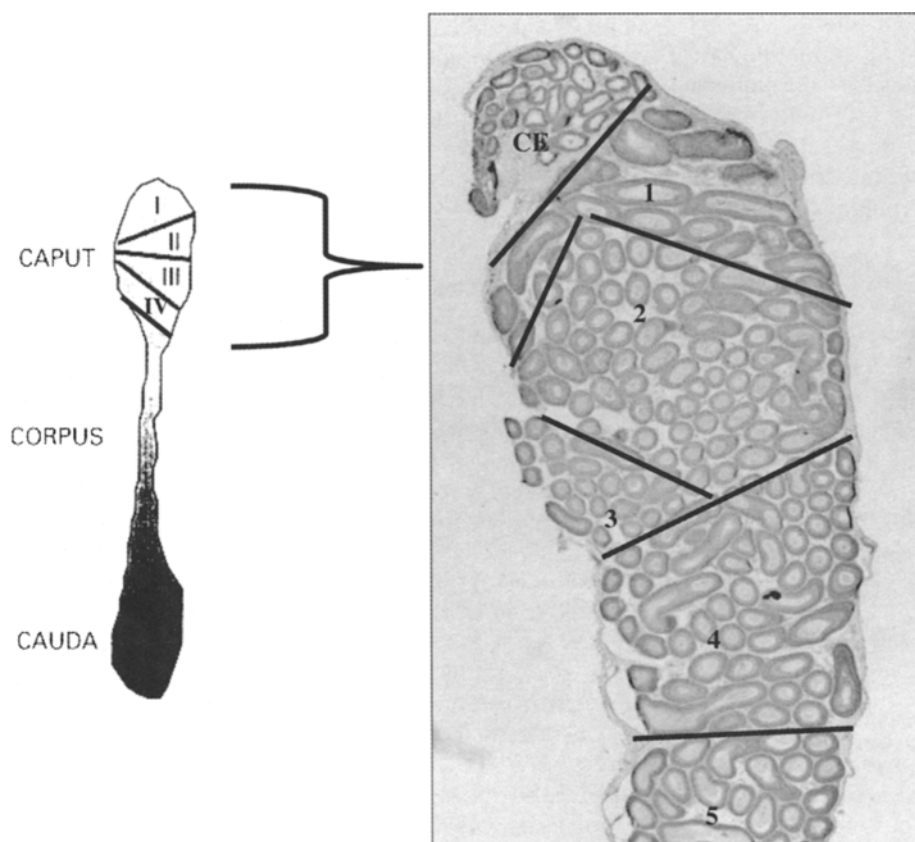


Figure 2 : L'épididyme des mammifères. Schéma et détails anatomiques de l'organisation de l'épididyme des mammifères.

La microscopie optique présentée illustre l'organisation de la tête de l'épididyme de souris. Les traits gras indiquent la présence de cloisons conjonctives (septa) qui séparent l'organe en sous territoires.

L'abréviation CE et les numéros mentionnent respectivement les canaux efférents et les différents segments épididymaires de la tête et du début du corps de l'épididyme.

L'organisation de l'épididyme des autres mammifères est proche du modèle murin. D'un mammifère à l'autre, des différences peuvent porter sur le nombre et la taille des sous territoires.

lement à appréhender font que les spermatozoïdes baignent dans un micro-environnement en perpétuel changement tout le long de leur trajet épididymaire ; la composition du fluide étant en tout point de l'épididyme la résultante des activités locales de sécrétion et de réabsorption de l'épithélium. Dans cet environnement changeant les spermatozoïdes vont être finement modelés. En particulier, on assistera à des modifications de la membrane plasmique du spermatozoïde qui se traduiront :

- par l'acquisition de nouvelles protéines de surface,
- par la perte de protéines ou de lipides membranaires,
- par la modification de protéines membranaires existantes par glycosylations différentielles, phosphorylation, ou protéolyses ménagées révélant ou masquant des sites fonctionnels,
- par des changements géographiques dans la répartition de certains composés membranaires au niveau de la tête du spermatozoïde.

Enfin, les sécrétions épididymaires participent à la protection et à la survie (nutrition) de ces cellules très différenciées. En guise d'exemple, c'est au cours du transit épididymaire que vont se poursuivre les phénomènes de condensation de l'ADN spermatique qui visent à protéger le matériel chromosomique haploïde de cette cellule pratiquement dépourvue de cytoplasme et donc particulièrement vulnérable. Les sécrétions épididymaires protègent aussi les gamètes mâles de l'attaque radicalaire car la composition particulière de leur membrane plasmique, très riche en acides gras poly-insaturés, les rends susceptibles au stress oxydant.

Régionalisation de l'expression des gènes au sein de l'épididyme.

La régionalisation anatomique et fonctionnelle de l'épididyme est de façon logique retrouvée au niveau des activités de synthèses protéiques et au niveau de l'expression différentielle des gènes correspondants. Ces trente dernières années plusieurs dizaines de protéines ont été montrées comme s'exprimant de façon ubiquiste ou régionalisée dans l'épididyme des mammifères. Seul un petit nombre de gènes correspondant à ces protéines ont été clonés et étudiés d'un point de vue moléculaire (voir pour revues : [22, 25, 42]). Enfin, peu de ces gènes et de ces protéines se sont révélés être purement épididyme spécifiques, ce qui en termes de notion de cible contraceptive potentielle est une condition nécessaire. Pour certaines de ces protéines des fonctions présumées ont pu être associées. Cependant, dans la majorité des cas il n'y a pas de preuves formelles que la (ou les) protéine(s) au sein de l'épididyme remplisse(nt) la fonction qui lui (ou leur) avait été assignée dans un autre tissu. La notion, de plus en plus fréquente, de la multifonctionnalité des protéines nous engage à rester prudent s'agissant d'assigner une fonction à une protéine donnée sur la seule base de son action prouvée dans un autre contexte.

De ces études préliminaires des activités de synthèse pro-

téique et de l'expression différentielle des gènes dans l'épididyme des mammifères, il ressort, que la tête de l'épididyme (*caput*) est qualitativement et quantitativement de loin le territoire le plus actif en termes de gènes et de protéines exprimés. Cependant, ce territoire est aussi le plus complexe et le plus souvent les gènes et protéines trouvés exprimés dans la tête de l'épididyme sont soumis à des régulations complexes : spatiale, temporelle, hormonale et aussi *via* des facteurs paracrines arrivant par le fluide testiculaire. Cette complexité des phénomènes de régulation des fonctions épididymaires ne facilite pas la tâche des investigateurs et ne permet pas de dégager rapidement des cibles claires pour le développement de stratégies contraceptives épididymaires.

Très récemment ont été entreprises des études globales des gènes exprimés dans l'épididyme des mammifères *via* l'utilisation de microarrays [36] ou/et de l'outil protéomique [69]. Des approches différentielles ont été utilisées, de façon à faire ressortir les gènes et protéines exprimés préférentiellement dans certaines régions épididymaires, en particulier au niveau des différents segments de la tête de l'épididyme [36]. Ainsi, par exemple, sur les 15300 et quelques gènes trouvés exprimés dans l'épididyme murin adulte seuls 123 ont été trouvés enrichis dans le segment initial de la tête de l'épididyme [36]. Ce type d'étude va permettre des avancées importantes dans la compréhension de la physiologie de l'épididyme et donc des événements qui conduisent à la maturation des gamètes. La quantité phénoménale de résultats générés par ces approches nécessite cependant beaucoup de temps avant de pouvoir dégager des cibles pertinentes. Il sera aussi nécessaire de mener de telles études en parallèle chez l'homme fertile et infertile. Celles-ci pourraient permettre de mettre en évidence des défaillances naturelles du système de production et de maturation des gamètes qui pourraient être utilisées à des fins contraceptives.

III. COMMENT AGIR SUR L'EPIDIDYME ?

1. Contrôle hormonal

L'épididyme achève sa différenciation de façon tardive, post-natalement sous la montée des androgènes circulants et entrants dans l'organe à la maturité sexuelle. Il est clair que la castration provoque une rapide inhibition des activités de synthèse protéique épididymaire et une régression marquée de la taille de l'organe. Cette régression est réversible lorsque l'on supplémente en DHT, la forme active de la testostérone. De ces constats, l'idée a émergé que l'on pourrait perturber la maturation épididymaire par l'utilisation d'anti-androgènes. Des études initiales menées chez le rat ont révélé que 4 mois après l'implantation sous-cutanée de capsules contenant un anti-androgène (cyprotérone acétate : 2 x 20 mg) l'architecture des épididymes était fortement perturbée. Les spermatozoïdes prélevés au niveau de la queue de l'épididyme des animaux traités étaient immobiles, morphologiquement anormaux et présentaient notablement une diminution importante de leur charge en acide sialique [51]. Ces incidences suggéraient que la maturation

épididymaire des spermatozoïdes était affectée sans pour autant qu'il ne soit enregistré de variations notables au niveau du poids et des activités sécrétoires des testicules et des glandes accessoires. Aucune variation de comportement sexuel n'a par ailleurs été enregistrée chez le rat. Le cyprotérone acétate est un anti-androgène qui entre en compétition avec la testostérone et la DHT pour occuper le récepteur aux androgènes. A des doses plus importantes le cyprotérone acétate peut inhiber la production des spermatozoïdes au niveau du testicule. Le cyprotérone acétate a été utilisé à faible dose chez l'homme en essai clinique dès le milieu des années 70 et a conduit à des altérations des fonctions épididymaires. Cependant, même à faible dose des controverses existent quant à l'innocuité de cet anti-androgène après des traitements prolongés.

Suivant la même idée des essais récents de contraception post-testiculaire ont été tentés en insérant une membrane siliconée imprégnée de levonorgestrel (progestin) sur la crosse de la queue de l'épididyme de rats mâles [50]. Parmi les animaux testés, un certain nombre se sont révélés infertiles.

2. Le point sur les autres disrupteurs non-hormonaux des fonctions épididymaires.

A ce jour, la recherche de molécules agissant sur l'environnement épididymaire (épididyme et/ou spermatozoïdes épididymaires) sans affecter la régulation hormonale n'a pas produit de candidats dont l'utilisation ne soit pas accompagnée d'effets secondaires. Plusieurs molécules ont été et sont encore à l'étude, parmi lesquelles on trouve : le gossypol, la sulfasalazine, l'alpha-chlorohydrine et plusieurs composés sucrés. En ce qui concerne le gossypol, les études sur les animaux modèles et chez l'homme ont montré que le gossypol, un pigment jaune trouvé dans les graines de coton, réduisait la fertilité sans induire de modifications comportementales. Le gossypol agit en réduisant le contenu en ATP du spermatozoïde et de ce fait, réduit le métabolisme énergétique de la cellule, donc sa mobilité. Il n'est pas sélectif de l'épididyme et agirait au niveau des mitochondries des spermatozoïdes testiculaires et épididymaires. A faible dose et, après exposition prolongée, un effet sélectif (hypertrophie) sur l'épithélium de la queue de l'épididyme a été remarqué [58, 66, 88]. Cependant, l'utilisation du gossypol n'est pas exempte d'effets secondaires, le plus important d'entre eux en termes de pronostic vital mais aussi le plus controversé étant, pour environ 10% des hommes traités, l'induction d'une hypokaliémie [54, 86]. L'induction d'une infertilité permanente après exposition prolongée au gossypol a aussi été rapportée. A cause de ces effets, l'attention des chercheurs s'est détournée, peut-être à tort, de l'exploitation du gossypol ou de formes dérivées du gossypol qui, à ce jour n'ont toujours pas donné de résultats satisfaisants.

La sulfasalazine, un inhibiteur de la synthèse des prostaglandines, provoque des anomalies réversibles de la morphologie des spermatozoïdes (augmentation de volume des têtes spermatiques). L'alpha-chlorohydrine, les imidazoles (ornidazole = agent antifongique contre les microor-

ganismes aérobies, couramment utilisé en clinique dans les infections du tractus génital), les diterpène époxydes (triptolide : un multiglycoside extrait de la plante *Tripterygium wilfordii* [53]) et certains dérivés sucrés ont été testés pour leur action contraceptive qui se manifeste dans la plupart des cas sur les spermatozoïdes de la queue de l'épididyme [87]. Ces composés, interfèrent avec le métabolisme glycolytique (GAPDH) des spermatozoïdes et de ce fait perturbent leur motilité. Comme pour le gossypol, ces diverses molécules n'ont pas de spécificité stricte d'action sur l'épididyme et entraînent aussi le plus souvent des dommages au niveau du testicule. De même, des effets secondaires néfastes (infertilité irréversible, tératogénicité, mutagénicité, neurotoxicité, néphrotoxicité...) accompagnent l'utilisation de ces différentes molécules chimiques et limitent leur utilisation comme agents contraceptifs. L'ornidazole reste le composé chimique dont l'effet sur la fertilité a été le plus rapide et le plus efficace. Le développement de dérivés de cette molécule dont la toxicité associée serait moindre et l'efficacité renforcée de façon à réduire les doses utilisées pourrait être prometteur.

A côté de ces molécules chimiques, un élément simple comme le cuivre est connu depuis longtemps pour exercer un effet inhibiteur sur la mobilité des spermatozoïdes. Il est proposé que le cuivre modifie le statut redox en augmentant les dommages oxydatifs. L'extrême susceptibilité des gamètes mâles à l'attaque radicalaire peut expliquer l'effet du cuivre observé dans la queue de l'épididyme où la balance redox est très finement régulée, le spermatozoïde lui-même étant producteur d'espèces oxygénées réactives [3]. Le cuivre modifie aussi la consommation du glucose, ce qui par voie de conséquence affecte la mobilité des spermatozoïdes. En raison de ces propriétés, le cuivre a été utilisé en implants ou appareillages intra-utérins, et des essais d'implants de cuivre à différents sites post-testiculaires du tractus génital mâle ont été réalisés (la queue de l'épididyme, la lumière du canal déférent, les vésicules séminales ou au niveau du scrotum). Dans tous ces essais, la mobilité des spermatozoïdes a été abolie, mais la toxicité cellulaire du cuivre sur les tissus environnants et à distance fait qu'il n'est pas possible d'utiliser cette méthode en continu chez l'homme [61]. Connaissant :

- l'importance du zinc dans la physiologie du gamète mâle et le rôle antagoniste du zinc sur le cuivre,
- les liens complexes qui existent entre la vitamine E, la vitamine C, le cuivre et le zinc dans la régulation du stress oxydant et,
- les liens complexes qui existent entre le cuivre, le zinc et les hormones stéroïdiennes (testostérone et oestrogènes),

il est peu probable que l'utilisation d'éléments traces tels que le cuivre, le zinc et le sélénium ait un quelconque avenir dans le développement de stratégies contraceptives épididymaires.

3. Interférence avec des sécrétions majeures de l'épididyme

Etant donné, que certaines activités de sécrétion sont

majeures et quelquefois spécifiques à l'épididyme des mammifères, il était logique de penser qu'elles pouvaient être importantes en termes d'acquisition du pouvoir fécondant des gamètes mâles. Dans quelques cas de figure, la disponibilité d'inhibiteurs spécifiques ou de compétiteurs a permis de déprimer le fluide épидидymaire de certains de ces constituants. Ce fut le cas de la glucosidase neutre, une enzyme hydrolytique spécifique de l'épididyme, et de la carnitine, une des protéines de faible poids moléculaire sécrétée par l'épididyme [20]. Les forts taux de sécrétion épидидymaire de ces molécules (comme c'est le cas pour la plupart des sécrétions épидидymaires) n'ont pas permis de réductions dramatiques de ces deux molécules et par voie de conséquence n'ont pas eu d'effet important en termes de réduction de la fertilité. Il est probable que cet état de fait soit valable pour beaucoup des protéines sécrétées par l'épithélium épидидymaire.

4. Les modèles d'infertilité associés à des phénotypes épидидymaires : des pistes éventuelles

Il existe peu de modèles naturels d'infertilité connus ayant une origine épидидymaire ou qui se manifestent par un phénotype épидидymaire. Le plus connu, et aussi le plus ancien, cas d'infertilité impliquant un dysfonctionnement épидидymaire sans perturbation des fonctions testiculaires est le « Dag-defect » rencontré dans plusieurs espèces animales domestiques (étalon, verrat, bélier) et rapporté initialement par Blom en 1966 [13]. Au cours du transit épидидymaire, les spermatozoïdes des animaux Dag présentent un flagelle recourbé ou en boucle, perturbant la mobilité et le déplacement rectiligne de ces derniers [18].

De façon intéressante, ces dernières années des cas d'infertilité associés à l'observation de spermatozoïdes présentant des phénotypes similaires ont été trouvés dans plusieurs modèles distincts de souris transgéniques.

a) Le modèle *c-ros*

Le gène *c-ros* appartient à la famille des proto-oncogènes codant pour une protéine membranaire à domaine intracellulaire présentant un site catalytique à activité tyrosine kinase. La seule manifestation visible lorsque le récepteur orphelin *c-ros* est invalidé chez la souris est trouvée chez les homozygotes au niveau de la région proximale de la tête de l'épididyme avec l'absence de développement du segment initial [64]. Ce phénotype épидидymaire est aussi associé à une infertilité pour les homozygotes malgré une production normale de spermatozoïdes et un comportement sexuel normal. L'expression de *c-ros* n'est pas restreinte à la tête de l'épididyme puisque au cours du développement *c-ros* est exprimé avec des variations temporelles dans les dérivés Wolffiens, le rein, le poumon et l'intestin [65, 68]. Cependant chez l'adulte l'expression de *c-ros* n'est pas maintenue dans les tissus non reproducteurs alors que l'expression de *c-ros* devient forte et est restreinte à la tête de l'épididyme.

En parallèle à l'absence de différenciation du segment initial de la tête de l'épididyme, les spermatozoïdes des souris *c-ros* présentent des flagelles angulés, *in vivo* comme *in*

vitro, rappelant le phénotype du Dag-defect [83]. Des analyses comparées de la motilité des spermatozoïdes de souris sauvages et de souris *c-ros* ont révélé que ces derniers sont incapables d'atteindre l'oviducte [85]. Des analyses plus fines de ces spermatozoïdes ont révélé que les courbures flagellaires résultaient d'une incapacité pour les gamètes des souris *c-ros* à réguler leur volume durant le transit épидидymaire [80, 83, 84]. L'angulation se manifeste au niveau de la gouttelette cytoplasmique, à la jonction de la pièce intermédiaire et de la pièce principale [21].

L'importance de cette notion de régulation du volume du spermatozoïde a été confirmée chez l'homme. En effet, des changements de morphologie et de taille ont été détectés par cytométrie de flux et par microscopie sur des spermatozoïdes humains traités par des agents bloquants des canaux ioniques (quinine). À une augmentation du volume des spermatozoïdes traités par la quinine ont été associés une réduction de la vitesse linéaire et une augmentation des déplacements latéraux sans que la motilité générale ne soit affectée. Les effets de la quinine ont pu être abolis par les ionophores potassiques, alors que l'absence de calcium n'a pas entraîné de variation [82]. Ces résultats suggèrent que chez l'homme aussi les phénomènes de régulation de volume du spermatozoïde sont importants pour la motilité de ce dernier et, qu'ils impliquent des canaux potassiques sensibles à la quinine et indépendants du calcium. Ces canaux ioniques pourraient être des éventuelles cibles pour le développement de stratégies contraceptives.

Très récemment, une approche comparative des gènes et protéines dont l'expression est modifiée dans le modèle souris *c-ros* a été publiée [19]. Il est sorti de cette étude que parmi plus de 70 transporteurs et canaux ioniques trouvés exprimés dans la tête de l'épididyme murin, seuls 3 sont régulés à la hausse et 6 à la baisse dans le modèle *c-ros* [19, 76, 78, 79]. Ces gènes (par exemple : le transporteur de glutamate [EAAC1], le transporteur de taurine [TauT] et le canal à taurine [PLM], le co-transporteur à sodium-inorganique phosphate [NaPi-III]) deviennent donc de bonnes cibles à explorer.

b) Le modèle *GPX5-Tag2*

Dans ce modèle de souris transgéniques, l'antigène T de SV40 a été placé sous le contrôle d'un fragment du promoteur d'un gène exprimé spécifiquement dans la tête de l'épididyme, le gène codant pour la glutathion peroxydase 5 [25, 45, 62]. Cette lignée de souris, développée dans le cadre du réseau AMPPA, a été générée avec deux objectifs principaux.

Le premier objectif était d'établir un modèle de tumorigénèse *in vivo* de l'épithélium épидидymaire afin de développer à partir des épithéliums hyperplasiques des lignées de cellules épithéliales épидидymaires immortalisées. Le deuxième objectif qui a présidé à la génération de ces souris transgéniques était, d'appréhender les mécanismes moléculaires qui protègent l'épithélium épидидymaire de la tumorigénèse primaire, les tumeurs primaires de l'épididyme étant, de mémoire de cliniciens, rarissimes.

Le premier objectif a été atteint puisque à partir des épithélia épididymaires hyperplasiques des souris GPX5-Tag2, de nombreuses lignées de cellules épithéliales de différentes régions de l'épididyme ont été dérivées [63] et sont maintenant disponibles pour la communauté scientifique. L'expression de l'antigène T de SV40 dans les cellules principales de l'épithélium épididymaire a conduit à une faible prolifération cellulaire au niveau de la tête de l'épididyme perturbant les fonctions de sécrétion et de réabsorption de l'organe [45]. Associé à cette petite hyperplasie épithéliale épididymaire, les spermatozoïdes des souris GPX5-Tag2 présentent une angulation prononcée de leur flagelle, un phénotype qui une nouvelle fois rappelle le phénotype évoqué dans les animaux Dag et pour les souris *c-ros*^{-/-} [45]. Les souris mâles GPX5-Tag2 homozygotes sont par ailleurs infertiles. Des analyses, du même ordre que celles évoquées plus haut, ont conduit à la conclusion que pour les animaux GPX5-Tag2 les courbures flagellaires sont aussi dues à des perturbations dans les capacités des spermatozoïdes à réguler leur volume au cours de la maturation épididymaire [81]. Etant donné, que l'hyperplasie épithéliale concerne essentiellement la tête de l'épididyme des animaux GPX5-Tag2 cela met l'accent sur l'importance de cette région de l'épididyme dans les phénomènes de régulation de volume des spermatozoïdes.

Une hyperplasie épididymaire accompagnée d'une stérilité mâle mais aussi du développement d'une réponse inflammatoire a aussi été rapportée pour un modèle de souris transgéniques dans lesquelles le protooncogène *H-ras* a été surexprimé [30]. *H-ras* code pour une protéine associée à la membrane fixant le GTP dont on suppose qu'elle fonctionne comme intermédiaire dans une voie de transduction de signaux impliquée dans les processus de régulation de la prolifération cellulaire [9]. Les spermatozoïdes de ces souris n'ont pas été analysés plus avant d'un point de vue morphologique et fonctionnel.

c) Le modèle *ApoER2*

Le récepteur apoER2 est un membre de la famille des récepteurs aux LDL (lipoprotéines de faible densité), et un important régulateur de la migration neuronale. Il fonctionne au niveau des neurones comme un récepteur pour le facteur de signalisation « reelin » et donne des indications de position aux neurones en migration dans le cerveau en développement. De façon attendue, les souris déficientes en apoER2 ont des anomalies dans la formation du cerveau [77]. De façon plus inattendue les souris mâles apoER2^{-/-} se révèlent infertiles [6]. Des analyses plus ciblées ont révélé qu'apoER2 est fortement exprimé dans le segment initial de l'épididyme où il affecte l'expression de la phospholipide hydroperoxyde glutathion peroxydase (GPX4 ou PHGPX), une protéine qui participe à la maturation des gamètes [70]. Dans les animaux KO pour apoER2, l'expression de GPX4 est réduite et corrélée à l'apparition de morphologies anormales des spermatozoïdes (au niveau de l'arrangement des mitochondries autour de l'axonème dans la pièce intermédiaire), d'immotilité et d'inaptitudes à réguler leur volume [6]. De façon intéressante, chez l'homme, une expression insuffisante de GPX4 a été corrélée avec l'installation d'une

infertilité reposant sur des atteintes morphologiques des spermatozoïdes, en particulier au niveau de la pièce intermédiaire, et sur des anomalies dans la motilité rectiligne [27]. Un ligand épididymaire potentiel pour ApoER2 serait la clustérine (apolipoprotéine J = apoJ) sécrétée activement par les cellules de la tête de l'épididyme [47] dont le rôle dans la maturation épididymaire des gamètes n'est pas précisé. Megalin, un autre récepteur aux LDL permettant l'endocytose de la clustérine, a été récemment trouvé exprimé dans les cellules principales de l'épididyme [35, 48, 71]. Cependant, la clustérine/apo J seule ne permet pas d'expliquer le phénotype des souris apoER2^{-/-}, car l'inactivation du gène de la clustérine ne conduit pas à des effets notables sur la fertilité mâle [8].

d) Les modèles des souris KO pour des récepteurs lipidiques

Très récemment, nous avons exploré au laboratoire des souris KO pour des récepteurs à des formes particulières du cholestérol. Parmi diverses manifestations phénotypiques notées chez les homozygotes invalidés pour 2 isoformes de ces récepteurs, une infertilité mâle qui augmente au cours de l'âge est à remarquer. L'analyse des épididymes de ces souris révèle des bouleversements majeurs de l'épithélium des régions proximales de la tête de l'épididyme. En particulier, une dédifférenciation importante des cellules principales qui perdent leur aspect de grandes cellules sécrétrices fortement polarisées. Associées à ce phénotype, des accumulations de substances amorphes sont retrouvées dans la lumière de l'épididyme et des inclusions lipidiques perturbent l'organisation de l'épithélium épididymaire. Les spermatozoïdes sont rares et systématiquement décapités au niveau de la pièce intermédiaire. Les flagelles présentent divers états de courbure rappelant une fois de plus les désordres notés dans les modèles transgéniques évoqués ci-dessus.

De façon similaire, des souris hétérozygotes invalidées pour le gène apoB [37] et des souris homozygotes invalidées pour le gène de la sphingomyélinase acide [17] présentent des problèmes dans le métabolisme des lipides dans l'épididyme conduisant à des phénotypes d'infertilité par baisse de la motilité des spermatozoïdes et apparition de courbures flagellaires. Ces phénotypes communs chez des animaux invalidés au niveau de gènes importants pour le métabolisme des lipides témoignent, une fois encore, de l'existence de problèmes dans les phénomènes de régulation de volume des spermatozoïdes.

A noter aussi, le cas des souris KO pour le récepteur RXR β qui présentent des accumulations de lipides dans les cellules de Sertoli et dans les épithéliales de la tête de l'épididyme, associées à l'apparition de flagelles en boucles et d'anomalies d'enroulement des mitochondries autour de l'axe flagellaire au niveau de la pièce intermédiaire [39].

IV. PISTES PRIVILEGIEES

Les observations relatées dans les paragraphes ci-dessus mettent en avant le rôle majeur joué par la tête de l'épidi-

dyme et le segment initial dans les événements de la maturation des spermatozoïdes. Les analogies des phénotypes obtenues, avec en particulier la présence systématique de courbures flagellaires plus ou moins prononcées associées à des problèmes de motilité et à l'apparition d'infertilité, malgré la diversité des gènes concernés, mettent en avant l'importance des phénomènes de régulation de volume dans l'acquisition du pouvoir fécondant du spermatozoïde (voir Tableau 1).

Ainsi, une des pistes en cours d'investigation pour le développement de stratégies contraceptives concerne l'étude des canaux ioniques et des transporteurs d'osmolytes dans l'épithélium épидидymaire (ex : transporteurs ioniques, aquaporines, CFTR...). L'identification des molécules impliquées est en cours et la recherche d'analogues ou d'inhibiteurs de ces molécules est engagée.

Les phénotypes d'infertilité mâle très proches, observés dans les modèles de souris transgéniques invalidées pour des gènes impliqués dans l'homéostasie lipidique, conduisent aussi à s'intéresser aux gènes et protéines épидидymaires impliqués dans ces mouvements de molécules. Une recherche a donc été engagée, pour appréhender des transporteurs et des transporteurs inverses lipidiques (cf les transporteurs ABC ou molécules apparentées) qui pourraient être des cibles pour l'action de molécules pharmacologiques. Il est intéressant de constater au travers de ces différents modèles transgéniques qu'il existe un lien entre les mouvements de lipides dans la maturation épидидymaire

des spermatozoïdes et les phénomènes de régulation de volume des spermatozoïdes. Il est clair que les remodelages lipidiques de la membrane plasmique des spermatozoïdes sont importants au cours de la maturation épидидymaire. D'une façon très grossière, le ratio phospholipides/cholestérol de la membrane plasmique des spermatozoïdes change de la tête vers la queue de l'épididyme dans le but d'augmenter les capacités fusogéniques des spermatozoïdes en vue de la fécondation. Une altération de ces modifications épидидymaires de la composition lipidique membranaire des spermatozoïdes, même minime, aurait sans aucun doute des effets néfastes en termes de fécondation.

V. AUTRE PISTE PRIVILEGIEE : LA MODULATION DU STATUT REDOX AU SEIN DE L'EPIDIDYME

Les spermatozoïdes entretiennent des relations particulières avec les espèces oxygénées réactives (EOR) résultant du métabolisme de l'oxygène chez les eucaryotes aérobies. En effet, les spermatozoïdes, à cause de la composition particulière de leur membrane plasmique (riche en acides gras polyinsaturés), sont particulièrement sensibles à l'attaque radicalaire. De plus, le matériel nucléaire de cette cellule haploïde, transcriptionnellement inactive et, virtuellement dépourvue de cytoplasme est particulièrement à risque face aux dommages oxydatifs (effets mutagènes des EOR). Il est donc logique de trouver dans l'environnement des spermatozoïdes une protection efficace contre les dommages radicalaires.

Tableau 1 : Caractéristiques des différents modèles de souris transgéniques pour lesquels un phénotype épидидymaire associé à une infertilité mâle ont été rapportés.

	c-ros	GPX5-Tag2	ApoER2	Chol	ApoB	RXRβ
Protéines concernées	Récepteur Orphelin Tyrosine kinase	Surexpression Oncogène Transformant Ag T SV40	Récepteur LDL	Récepteurs cholestérol	LDL	Récepteur Acide rétinoïque
Expression épидидymaire	Oui Caput SI	NA	Oui Caput SI	Oui Caput	NT	Oui Toutes régions
Phénotype épидидymaire	Absence segment initial	Hyperplasie faible caput	RAS	Destructuration SI + SII Inclusions lipidiques	NT	Accumulation de lipides
Phénotype spermatozoïde	Courbures flagellaires Mobilité affectée					
Impact			infertilité			
Référence	Sonnenber-Riethmacher et al., [64]	Lahti et al., [45]	Andersen et al., [6]	soumis	Huang et al., [37]	Kastner et al., [39]

NA: non applicable (expression artificielle d'un oncogène qui ne s'exprime pas normalement); NT: non testé.

C'est particulièrement le cas dans l'épididyme qui exprime un nombre important d'enzymes impliquées dans le recyclage des espèces oxygénées réactives. En effet, outre la glutathion peroxidase cytosolique (GPX1) qui est exprimée de façon ubiquiste dans tous les tissus, l'épididyme des mammifères exprime la glutathion peroxydase plasmatique (GPX3), la glutathion peroxidase d'hydroperoxyde de phospholipide (GPX4) et la glutathion peroxydase 5 (GPX5). Peu de tissus, sinon aucun, expriment autant d'enzymes antioxydantes de la famille des GPX. Ces enzymes, comme la catalase, recyclent le peroxyde d'hydrogène issu du fonctionnement de la superoxyde dismutase (SOD). Contrairement à la catalase, les GPX agissent à des doses physiologiques de substrat et sont plus versatiles puisque, outre H₂O₂, elles peuvent aussi métaboliser différentes molécules complexes peroxydées. Elles peuvent donc à la fois recycler le peroxyde d'hydrogène et réparer certains des dommages oxydatifs causés aux molécules complexes dans les cas où un déplacement de l'équilibre autoriserait une accumulation d'H₂O₂ et la formation de l'agressif radical hydroxyle au travers des réactions couplées de Fenton et d'Haber-Weiss.

Toutes ces GPX épидидymaires ne sont pas exprimées dans les mêmes proportions ni dans les mêmes territoires. GPX1 et GPX3 sont toutes deux exprimées à un faible niveau et restent cytosoliques dans les cellules principales de l'épididyme. L'expression de GPX3 augmente de la tête vers la queue de l'épididyme. En ce qui concerne GPX4, il existe un transcrit épидидymaire de GPX4, distinct du transcrit testiculaire codant pour une protéine à localisation cytoplasmique, alors que la protéine testiculaire est exprimée au stade spermatide et est adressée aux mitochondries du spermatozoïde [43]. GPX4 n'est pas restreinte au testicule et à l'épididyme, puisqu'on retrouve la protéine, dans sa forme somatique, exprimée de façon significative dans : le rein, le coeur, le muscle lisse, le foie, le cerveau et la rate.

GPX5 est la seule GPX qui soit majoritairement exprimée dans l'épididyme, restreinte à la tête de l'épididyme et sécrétée dans la lumière du canal épидидymaire [72]. Quantitativement, GPX5 est la GPX majoritaire de l'épididyme représentant à elle seule plus de 90% des messagers GPX exprimés dans l'épididyme [72]. Une fois sécrétée, la protéine est retrouvée associée aux spermatozoïdes au niveau de l'acrosome [44, 72]. Autre particularité, GPX5 est la seule GPX animale qui soit dépourvue de sélénium dans son site actif [74], toutes les autres GPX animales étant des sélénoprotéines pour lesquelles il a été démontré que l'absence de sélénium dans le site catalytique sous la forme d'une sélénocystéine réduisait grandement l'activité de l'enzyme [46]. Malgré cette séléno-indépendance GPX5, peut métaboliser l'H₂O₂ *in vitro* comme *in vivo* [74, 75], ce qui suggère qu'elle pourrait en partie agir comme une véritable enzyme antioxydante pour le spermatozoïde. Sa localisation membranaire sur le gamète mâle permet de supposer qu'elle pourrait protéger la membrane plasmique du spermatozoïde de l'attaque radicalaire. Outre son accrochage membranaire aux spermatozoïdes, GPX5 a aussi été détectée libre dans le fluide épидидymaire et associée à des

vésicules apocrynes de sécrétion appelées épидидymosomes dont on suppose qu'elles constituent des intermédiaires de transport et d'échanges de molécules entre les spermatozoïdes et l'épithélium épидидymaire [56, 57].

Enfin, l'épididyme des mammifères est aussi le siège d'une activité indoleamine dioxygénase (INDO), une enzyme antioxydante particulière peu représentée dans les autres tissus à l'exception de l'intestin, dont la tâche est de métaboliser l'anion superoxyde en le complexant sur du tryptophane, court-circuitant ainsi l'action des enzymes ubiquistes de type superoxyde dismutase (SOD). Ainsi, la couverture en enzymes antioxydantes de l'épididyme et des spermatozoïdes est particulièrement importante suggérant qu'il faille maintenir un contrôle étroit des concentrations en espèces oxygénées réactives au voisinage des gamètes mâles. Ceci est en accord avec la fragilité reconnue des spermatozoïdes face à l'attaque radicalaire.

De façon surprenante, si les gamètes mâles craignent les effets délétères des EORs, ils sont connus pour être eux-mêmes de bons producteurs d'EORs [5, 34]. Une activité membranaire de type NADPH-oxydoréductase génératrice d'anion superoxyde a été trouvée associée au spermatozoïde [73]. L'enzyme impliquée dans cette génération d'EOR au niveau de la membrane plasmique des spermatozoïdes est en cours de purification. L'ambiguïté réside dans le fait que si le spermatozoïde est fragile et craint l'attaque radicalaire, pourquoi serait-il équipé d'une enzyme générant de telles espèces radicalaires. La réponse est probablement dans le fait que les EORs et, plus particulièrement l'anion superoxyde et l'H₂O₂, sont des signaux indispensables à la mise en route de voies de transduction activant des phosphorylations sur des résidus tyrosines de protéines membranaires conduisant à la capacitation. En effet, la maturation ultime du spermatozoïde (ie : la capacitation) qui précède la réaction acrosomique et la fécondation, requiert un double signal d'activation assuré par une indissociable augmentation de la concentration intracellulaire en AMPcyclo et une augmentation de la concentration en H₂O₂ [4, 24].

À la lumière de ces observations, il est clair qu'un contrôle étroit du statut redox doit être fait sur l'environnement intra- et extra-cellulaire des spermatozoïdes. L'abondant équipement enzymatique antioxydant de l'épididyme et du spermatozoïde est sans nul doute le reflet de ce contrôle étroit.

De façon intéressante, dans de nombreux cas naturels d'infertilité masculine associés à une baisse du nombre de spermatozoïdes (oligozoospermie) on enregistre en parallèle une montée du statut redox du fluide séminal et/ou de l'environnement épидидymaire. Une controverse existe quant à savoir si cette dérégulation de la balance redox est une cause ou une conséquence de l'infertilité ou liée à l'établissement d'un état inflammatoire avec infiltration de leucocytes, producteurs d'EORs.

Dans l'objectif de développer des stratégies contraceptives nouvelles l'idée serait de déplacer la balance redox de l'environnement épидидymaire soit en agissant sur les enzymes anti-oxydantes, soit en agissant sur la production d'EORs par les gamètes. Dans cette optique, sur le volet équipement

antioxydant de l'épididyme et du spermatozoïde, la cible de choix est la GPX5. En effet, c'est la seule GPX qui soit spécifique de l'épididyme et exprimée de façon importante dans la tête de l'épididyme. Par ailleurs, GPX5 est retrouvée fixée à la membrane plasmique de la tête des spermatozoïdes, au voisinage de l'acrosome et, on a pu montrer que malgré l'absence de sélénium dans son site catalytique, elle pouvait fonctionner comme une véritable enzyme anti-oxydante et de ce fait protéger les gamètes des dommages radicalaires [74, 75]. La protéine GPX5 de souris est en cours de purification afin d'analyser de façon fine ses caractéristiques biochimiques dans le but de trouver des inhibiteurs spécifiques. Une même approche est en cours afin de caractériser la protéine de la membrane plasmique du spermatozoïde responsable de la production d'EORs. Le « design » d'inhibiteurs spécifiques de cet enzyme ou de molécules qui pourraient stimuler son activité pourraient conduire à soit inhiber la capacitation, soit augmenter le stress radicalaire dans l'environnement épидидymaire.

VI. LES EPIDIDYMOSES : UN MOYEN DE CIBLER LES SPERMATOZOÏDES ?

Dans tous les cas de figures, si une molécule à action contraceptive au niveau épидидymaire pouvait être finalisée, par quels moyens peut-on spécifiquement la délivrer à l'organe concerné ? Si la molécule est hautement spécifique d'une sécrétion ou d'une activité épидидymaire, la voie systémique pourrait-être utilisée. Cependant, l'implant épидидymaire, parce qu'il permet de limiter les quantités de molécules actives à utiliser reste la solution la plus évidente. Dans cette optique d'adressage épидидymaire et d'adressage au spermatozoïde d'une molécule donnée, les vésicules de sécrétion apocrines ou aposomes (épидидyosomes, prostasomes, vésiculosomes,...) qui ont récemment été identifiées au niveau des épithéliaux des tissus du tractus génital mâle, pourraient donner des idées quant à la nature des véhicules à utiliser (voir pour revues, [56, 59]). En effet, il est supposé que ces vésicules de sécrétion interagissent en permanence avec les spermatozoïdes, échangeant avec ces derniers différents composants lipidiques et protéiques. C'est de cette façon que l'on explique la présence sur le spermatozoïde de protéines épидидymaires dépourvues de signal peptidique de sécrétion. La maîtrise de la composition membranaire et interne de ces vésicules de même que de leur mode de formation pourra donner des informations utiles pour le développement de potentiels vecteurs de transfert.

VII. IMMUNOCONTRACEPTION

Trois approches essentielles sont poursuivies à l'heure actuelle. Une approche post-fécondation et des approches qui s'intéressent aux gamètes mâles et femelles.

1. Vaccins anti-hormone chorionique gonadotrope (CG)

Une des premières approches envisagées a consisté à induire une réponse immune contre l'hormone chorionique

gonadotrope (CG). En effet, la CG constitue une cible privilégiée pour l'élaboration de vaccins contrôlant la fertilité puisque c'est l'une des toutes premières molécules produites après la fécondation. Les ARN messagers correspondant aux sous-unités alpha et bêta de cette hormone dimérique sont détectables dans les quelques heures qui suivent l'implantation, dès le stade 4-8 cellules [14]. Cette observation suggérerait qu'un vaccin anti-CG pourrait prévenir l'implantation, donc la grossesse.

En 1974, un premier vaccin anti-CG dirigé contre la sous-unité β couplée à l'anatoxine tétanique a été développé chez le babouin par le groupe de Talwar (New Delhi, Inde). Les premiers essais chez la femme [60] ont été réalisés en 1976 dans plusieurs pays (dont pour l'Europe : la Finlande et la Suède). Par la suite, des vaccins ont été élaborés contre différents peptides contenus dans la CG (en particulier dans la sous-unité β) couplés aux toxines diphtériques ou tétaniques (pour revue voir : [23]). Les essais cliniques ont révélé que de telles préparations sont capables de stimuler la production d'anticorps anti-CG. Cependant, l'immunogénicité des peptides utilisés reste faible ce qui conduit dans la plupart des cas à des réponses anticorps faibles. Par ailleurs, les conséquences à long terme d'une telle immunité en terme de sécurité et d'efficacité ne sont à l'heure actuelle pas connues. Etant donné l'étroite conservation des séquences amino-acides des polypeptides hormonaux (CG, LH, FSH, TSH) chez les mammifères, il est difficile d'envisager par cette approche le développement d'une immunité présentant une forte spécificité de cible et d'espèce. Pour résoudre le problème de faible immunogénicité le groupe de Bellet [12] a eu recours à des peptides discontinus de la CG (formés d'acides aminés placés en proximité étroite lorsque la chaîne polypeptidique adopte sa conformation spatiale). En effet, de tels peptides dits conformationnels sont en théorie plus immunogènes. La détermination de sites antigéniques conformationnels passe par la connaissance de la structure tridimensionnelle des peptides natifs.

2. Les vaccins anti-gamètes

Le développement de vaccins anti-gamètes a fait l'objet de multiples études coordonnées pour une grande part par l'Organisation Mondiale de la Santé. L'intérêt potentiel de tels vaccins réside dans leur mode d'action puisqu'ils agiraient avant la fécondation.

De façon brève, les approches consistent à provoquer une réponse immune contre des antigènes de surface spécifiques des gamètes mâles (membrane plasmique du spermatozoïde) ou femelles (zone pellucide entourant l'ovocyte). De nombreux résultats cliniques et expérimentaux supportent ces stratégies (pour revues voir : [28, 32]). Si les antigènes ciblés sont spécifiques d'une espèce donnée ces approches permettent d'envisager le développement de vaccins contraceptifs spécifiques. L'essentiel des travaux expérimentaux actuels vise à identifier les antigènes de surface des gamètes mâles et femelles [40, 41] et à tester leur participation dans la reconnaissance gamétique au cours de la fécondation.

3. Vaccins dirigés contre les protéines du spermatozoïde

Les protéines de la membrane plasmique des spermatozoïdes offrent la possibilité théorique de pouvoir générer chez la femelle des anticorps contre les gamètes mâles et chez le mâle des anticorps contre ses propres gamètes. Parmi les antigènes de surface des gamètes mâles, testés expérimentalement en laboratoire sur des organismes modèles, peuvent être mentionnés de façon non exhaustive :

- la protéine FA-1 (fertilization antigen 1) de rat. Une seule injection d'anticorps anti-FA-1 à des rates réduit la fertilité des animaux injectés [49] ;
- la lactate deshydrogénase C4 (LDH-C4), un isozyme de la LDH trouvé exclusivement dans les gamètes mâles. Des études ont montré que des immunisations de lapins, souris ou babouins contre la LDH-C4 réduisait la fertilité des animaux immunisés [31] ;
- la protéine épидидymaire P26h de hamster qui interagit de façon espèce spécifique avec une glycoprotéine de la zone pellucide de l'ovocyte de hamster. L'immunisation d'hamsters mâles par P26h a conduit à une réduction importante de la fertilité [11] ;
- les protéines testiculaires humaine et de primates SP-10, produites en système bactérien, ont conduit chez les animaux immunisés à l'élaboration d'anticorps capables de réagir avec la protéine SP-10 native extraite de spermatozoïdes humains [29, 55] ;
- la protéine PH20 de cochon d'Inde qui a permis d'induire une infertilité élevée après une injection unique à faible dose à des mâles [52] ;
- la protéine épидидymaire DE de rat qui, après injection à des rats réduit significativement la fertilité des animaux immunisés [26] ;
- la protéine SP56 de souris, qui après avoir été clonée dans un vecteur d'expression bactérien, a été injectée à des souris femelles et a conduit à l'élaboration d'un anticorps polyclonal réagissant avec l'acrosome des spermatozoïdes murins. L'immunisation intra-péritonéale de souris femelles suivie de 3 à 5 rappels a été accompagnée d'une réduction significative du nombre d'animaux par portée [33].

Les antigènes de surface des gamètes mâles ou femelles cités ci-dessus ont tous fait l'objet de tests expérimentaux en laboratoire sur des animaux modèles. A ce jour, peu d'antigènes ont été utilisés en tests pilotes sur des animaux sauvages ou d'élevages, très peu de chose ont été envisagées chez l'homme mis à part un essai clinique engagé sur l'équivalent humain de la protéine de hamster p26h (voir plus haut) qui chez l'homme est identifiée sous le nom de p34H. La quantité de p34H sur les spermatozoïdes ayant au préalable été corrélée à la fertilité chez l'homme [15, 16].

VIII. CONCLUSIONS

Bien que l'on soit encore loin de pouvoir disposer de contraceptifs à action post-testiculaire, l'épididyme de par sa position et son importance dans les processus

de la maturation des spermatozoïdes, est une cible de choix. Les analyses des phénotypes épидидymaires associés à des infertilités dans les récents modèles de souris transgéniques évoqués ci-dessus et la poursuite de telles investigations vont très certainement permettre de dégager de multiples pistes pour l'élaboration de molécules à action contraceptive. De la même façon, dans un avenir proche, les approches génomiques et protéomiques globales appliquées à l'épididyme de l'homme fertile et infertile permettront de dégager des cibles certaines. La tête de l'épididyme ou *caput* est le territoire qui semble le plus important dans les processus de maturation des spermatozoïdes. Si les activités sécrétoires épидидymaires ont jusqu'ici eu la primeur, il semble que les capacités de réabsorption et d'échanges de lipides et de petits métabolites soient tout aussi importantes. Enfin, les recherches concernant les vaccins antigamètes sont aussi à poursuivre puisqu'il apparaît clair maintenant qu'au niveau de la queue de l'épididyme (ou *cauda*) la barrière hémato-épидидymaire ne soit pas aussi stricte qu'on le pensait initialement, permettant ainsi l'apparition d'anticorps anti-gamètes chez le mâle.

REFERENCES

1. ABE K., TAKANO H., ITO T. : Ultrastructure of the mouse epididymal duct with special reference to the regional differences of the principal cells. Arch. Histol. Jpn., 1983, 46 : 51-68.
2. ABOU-HAILA A., FAIN-MAUREL M.A. : Regional differences of the proximal part of mouse epididymis : morphological and histological characterization. Anat. Rec., 1984, 209 : 197-208.
3. AITKEN R.J. : Free radicals, lipid peroxidation and sperm function. Reprod. Fertil. Dev., 1995, 7 : 659-658.
4. AITKEN R.J., CLARCKSON J.S., FISHEL S. : Generation of reactive oxygen species, lipid peroxidation, and human sperm function. Biol. Reprod., 1989, 41 : 183-197.
5. AITKEN R.L., FISHER H. : Reactive oxygen species generation and human spermatozoa : the balance of benefit and risk. Bioessays, 1994, 16 : 259-267.
6. ANDERSEN O.M., YEUNG C.H., VORUM H. et al. : Essential role of the apolipoprotein E receptor-2 in sperm development. J. Biol. Chem., 2003, 278 : 23989.
7. ARAKI Y., SUZUKI K., MATUSIK R.J., OBINATA M., ORGBIN-CRIST M.C. : Immortalized epididymal cells from transgenic mice overexpressing temperature-sensitive simina virus 40 large T-antigen gene. J. Androl., 2002, 23 : 854-869.
8. BAILEY R.W., ARONW B., HARMONY J.A., GRISWOLD M.D. : Heat shock-initiated apoptosis is accelerated and removal of damaged cells is delayed in the testis of clusterin/ApoJ knock out mice. Biol. Reprod., 2002, 66 : 1042-1053.
9. BARBACID M. : Ras oncogenes : their role in neoplasia. Eur. J. Clin. Invest., 1990, 20 : 225-235.
10. BEDFORD J.M. : The status and the state of the human epididymis. Hum. Reprod., 1994, 9 : 2187-2199.
11. BERUBE B., SULLIVAN R. : Inhibition of *in vivo* fertilization by active immunization of male hamsters against a 26-kDa sperm glycoprotein. Biol. Reprod., 1994, 51 : 1255-1263.
12. BIDART J.M., TROALEN F., GHILLANI P. et al. : Peptide immunogen mimicry of a protein-specific structural epitope on human choriogonadotropin. Science, 1990, 248 : 736-739.

13. BLOM E. : A new sterilizing and hereditary defect (the « Dag defect ») located in the bull sperm tail. *Nature*, 1966, 209 : 739-740.
14. BONDUELLE M.L., DODD R., LIEBAERS I., VAN STEVITE-GHEM A., WILLIAMSON R., AKKURST R. : Chorionic gonadotropin-beta mRNA, a trophoblast marker, is expressed in human eight-cell embryos derived from triplo-nucleate zygotes. *Hum. Reprod.*, 1988, 3 : 909-914.
15. BOUE F., BLAIS J., SULLIVAN R. : Surface localization of P34H, an epididymal protein during maturation, capacitation, and acrosome reaction of human spermatozoa. *Biol. Reprod.*, 1996, 54 : 1009-1017.
16. BOUE F., SULLIVAN R. : Cases of human infertility are associated with the absence of P34H, an epididymal sperm antigen. *Biol. Reprod.*, 1996, 54 : 1018-1024.
17. BUTLER A., HE X., GORDON R.E., WU H.S., GATT S., SCHUCHMAN E.H. : Reproductive pathology and sperm physiology in acid sphingomyelinase-deficient mice. *Am. J. Pathol.*, 2002, 161 : 1061-1075.
18. COOPER T.G. : The epididymis as a site of contraceptive attack. In : Nieschlag E., Habenicht U.F. eds. *Spermatogenesis, Fertilization, Contraception. Molecular, Cellular and Endocrine Events in Male Reproduction*. Berlin, Springer-Verlag, 1992 : 419-460.
19. COOPER T.G., WAGENFELD A., CORNWALL G.A. et al. : Gene and protein expression in the epididymis of infertile c-ros receptor tyrosine kinase-deficient mice. *Biol. Reprod.*, 2003, 69 : 1750-1762.
20. COOPER T.G., YEUNG C.H. : Recent biochemical approaches to post-testicular, epididymal contraception. *Hum. Reprod. Update*, 1999, 5 : 141-152.
21. COOPER T.G., YEUNG C.H. : Acquisition of volume regulatory response of sperm upon maturation in the epididymis and the role of the cytoplasmic droplet. *Microsc. Res. Tech.*, 2003, 61 : 28-38.
22. CORNWALL G.A., HANN S.R. : Specialized gene expression in the epididymis. *J. Androl.*, 1995, 16 : 379-383.
23. COULMAN C.B. : Immunocontraception becomes a reality : the Talwar HCG vaccine. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 1997, 37 : 151-152.
24. DE LAMIRANDE E., GAGNON C. : Human sperm hyperactivation and capacitation as parts of an oxidative process. *Free Radic. Biol. Med.*, 1993, 14 : 157-166.
25. DREVET J.R. : Regulation of gene expression in epididymis. In: *Andrology in the 21st century*. Robaire B., Chemes H., Morales C.R. eds. Medimond Press, USA, 2001 : 199-214.
26. ELLERMAN D.A., BRANTUA V.S., MARTINEZ S.P., COHEN D.J., CONESA D., CUASNICU P.S. : Potential contraceptive use of epididymal proteins : immunization of male rats with epididymal protein DE inhibits sperm fusion ability. *Biol. Reprod.*, 1998, 59 : 1029-1036.
27. FORESTA C., FLOHE L., GAROLLA A., ROVERI A., URSINI F., MAIORINO M. : Male fertility is linked to the selenoprotein phospholipid hydroperoxyde glutathione peroxidase. *Biol. Reprod.*, 2002, 67 : 967-971.
28. FRAYNE J., HALL L. : The potential use of sperm antigens as targets for immunocontraception ; past, present and future. *J. Reprod. Immunol.*, 1999, 43 : 1-33.
29. FREEMERMAN A.J., WRIGHT R.M., FLICKINGER C.J., HERR J.C. : Tissue specificity of the acrosomal protein SP-10 : a contraceptive vaccine candidate molecule. *Biol. Reprod.*, 1994, 50 : 615-621.
30. GILBERT E., MOREL A., TULLIEZ M. et al. : *In vivo* effects of activated H-ras oncogene expressed in the liver and in urogenital tissues. *Int. J. Cancer*, 1997, 73 : 749-756.
31. GOLDBERG E. : Lactate deshydrogenase C4 as an immunocontraceptive model. In : Alexander N.J., Griffin D., Speiler J.M., Waites G.M.H. eds. *Gamete interaction – Prospects for immunocontraception*. 1990. New York, Wiley Liss Inc., 1990 : 63-73.
32. HAMAMAH S., ROYERE D., JEAN M. : The future of male contraception : immunocontraception by preventing gamete interaction. *Contracept. Fertil. Sex.*, 1997, 25 : 136-140.
33. HARDY C.M., MOBBS K.J. : Expression of recombinant mouse sperm protein sp56 and assessment of its potential for use in an immunocontraceptive vaccine. *Mol. Reprod. Dev.*, 1999, 52 : 216-224.
34. HENKEL R., ICHIKAWA T., SANCHEZ R., MISKA W., OHMON H., SCHILL W.B. : Differentiation of ejaculates showing reactive oxygen species production by spermatozoa or leukocytes. *Andrologia*, 1997, 29 : 295-301.
35. HERMO L., LUSTIG M., LEFRANCOIS S., ARGRAVES W.S., MORALES C.R. : Expression and regulation of LRP-2/megalin in epithelial cells lining the efferent ducts and epididymis during postnatal development. *Mol. Reprod. Dev.*, 1999, 53 : 282-293.
36. HSIA N., CORNWALL G.A. : DNA microarray analysis of region-specific gene expression in the mouse epididymis. *Biol. Reprod.*, 2004, [article ahead of print].
37. HUANG L.S., VOYIAZAKIS E., CHEN H.L., RUBIN E.M., GORDON J.W. : A novel functional role for apolipoprotein B in male infertility in heterozygous apolipoprotein B knockout mice. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.*, 1996, 93 : 10903-10907.
38. HUEZO C.M. : Current reversible contraceptive methods : a global perspective. *Int. J. Gynaecol. Obstet.*, 1998, 1 : 3-15.
39. KASTNER P., MARK M., LEIDD M. et al. : Abnormal spermatogenesis in RXR β mutant mice. *Genes & Dev.*, 1996, 10 : 80-92.
40. KERR L.E. : Sperm antigens and immunocontraception. *Reprod. Fertil. Dev.*, 1995, 7 : 825-830.
41. KERR L.E., PATERSON M., AITKEN R.J. : Molecular basis of sperm-egg interaction and the prospects for immunocontraception. *J. Reprod. Immunol.*, 1998, 40 : 103-108.
42. KIRCHHOFF C. : Gene expression in the epididymis. *Int. Rev. Cytol.*, 1999, 188 : 133-202.
43. KNOPP E.A., ARNDT T.L., ENG K.L. et al. : Murine phospholipid hydroperoxyde glutathione peroxidase : cDNA sequence, tissue expression, and mapping. *Mamm. Genome*, 1999, 10 : 601-605.
44. JIMENEZ C., GHYSELINCK N.B., DEPEIGES A., DUFAURE J.P. : Immunochemical localization and association with spermatozoa of androgen-regulated proteins of MR 24000 secreted by the mouse epididymis. *Biol. Cell*, 1990, 68 : 171-174.
45. LAHTI P., SHARIATMADARI R., PENTTINEN J.K. et al. : Evaluation of the 5'-flanking regions of glutathione peroxidase five (GPX5) and cysteine-rich protein-1 (CRISP-1) genes for targeting epididymis in transgenic mice. *Biol. Reprod.*, 2001, 64 : 1115-1121.
46. MAIORINO M., AUMANN K.D., BRIGELIUS-FLOHE R. et al. : Probing the presumed catalytic triad of selenium-containing peroxidases by mutational analysis of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx). *Biol Chem Hoppe Seyler*, 1995, 376 : 651-660.
47. MATMUELLER D.R., HINTON B.T. : *In vivo* secretion and association of clusterin (SGP-2) in luminal fluid with spermato-

- zoa in the rat testis and epididymis. *Mol. Reprod. Dev.*, 1991, 30 : 62-69.
48. MORALES C.R., IGDOURA S.A., WOSU U.A., BOMAN J., ARGRAVES W.S. : Low density lipoprotein receptor-related protein-2. *Biol. Reprod.*, 1996, 55 : 676-683.
 49. NAZ R.K., PHILLIPS T.M., ROSEMBLUM B.B. : Characterization of the fertilization antigen 1 for the development of a contraceptive vaccine. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.*, 1986, 83 : 5713-5717.
 50. NIKKANEN V., SODERSTROM K.O., TUUSA S., JAAKKOLA U.M. : Effect of local epididymal levonorgestrel on the fertilizing ability of male rat, a model for post-testicular contraception. *Contraception*, 2000, 61 : 401-406.
 51. PRASAD M.R. : Limiting male fertility by selectively depriving the epididymis of androgen. *Res. Reprod.*, 1973, 5 : 3.
 52. PRIMAKOFF P., WOOLMAN-GAMER L., TUNG K.S., MYLES D.G. : Reversible contraceptive effect of PH-20 immunization in male guinea pigs. *Biol. Reprod.*, 1997, 56 : 1142-1146.
 53. QIAN S.Z. : *Tripterygium wilfordii*, a chinese herb effective in male fertility regulation. *Contraception*, 1987, 36 : 335-345.
 54. QIAN S.Z., JING G.W., WU X.Y., XU Y., LI Y.Q., ZHOU Z.H. : Gossypol related hypokalemia. *Clinicopharmacologic studies. Chin. Med. J. (Engl.)*, 1980, 93 : 477-482.
 55. REDDI P.P., CASTILLO J.R., KLOTZ K., FLICKINGER C.J., HERR J.C. : Production in *Escherichia coli*, purification and immunogenicity of acrosomal protein SP-10, a candidate contraceptive vaccine. *Gene*, 1994, 147 : 189-195.
 56. REJRAJI H., DREVET J.R. : Sécrétions apocrines dans le tractus génital mâle : rôles potentiels dans la maturation des gamètes. *Andrologie*, 2004, 14 : 22-33.
 57. REJRAJI H., VERNET P., DREVET J.R. : GPX5 is present in the mouse caput and cauda epididymidis lumen at three different locations. *Mol. Reprod. Dev.*, 2002, 63 : 96-03.
 58. ROMUALDO G.S., KLINEFELTER G.R., DE KRETZER D. : Postweaning exposure to gossypol results in epididymis-specific effects throughout puberty and adulthood in rats. *J. Androl.*, 2002, 23 : 220-228.
 59. SAEZ F., FRENETTE G., SULLIVAN R. : Epididymosomes and prostasomes : their roles in post testicular maturation of the sperm cells. *J. Androl.*, 2003, 24 : 149-154.
 60. SINGH O.M., RAO V., GAUR A., SHARMA N.C., ALAM A., TALWAR G.P. : Antibody response and characteristics of antibodies in women immunized with three contraceptive vaccines inducing antibodies against human chorionic gonadotropin. *Fertil. Steril.*, 1989, 52 : 739-744.
 61. SKANDHAN K.P. : Review on copper in male reproduction and contraception. *Rev. Fr. Gynecol. Obstet.*, 1992, 87 : 594-598.
 62. SIPILA P., COOPER T.G., YEUNG C.H. et al. : Epididymal dysfunction initiated by the expression of Simian Virus 40 T-antigen leads to angulated sperm flagella and infertility in transgenic mice. *Mol. Endocrinol.*, 2002, 16 : 2603-2617.
 63. SIPILA P., SHARIATMADARI R., HUHTANIEMI I., POUTANEN M. : immortalization of epididymal epithelium in transgenic mice expressing Simian Virus 40 T-antigen : characterization of cell lines and regulation of the polyoma enhancer activator 3. *Endocrinology*, 2004, 145 : 437-446.
 64. SONNENBERG-RIETHMACHER E., WALTER B., RIETHMACHER D., GODECKE S., BIRCHMEIER C. : The c-ros tyrosine kinase receptor controls regionalization and differentiation of epithelial cells in the epididymis. *Genes Dev.*, 1996, 10 : 1184-1193.
 65. SONNENBERG E., GODECKE A., WALTER B., BLADT F., BIRCHMEIER C. : Transient and locally restricted expression of the ros-1 protooncogene during mouse development. *EMBO J.*, 1991, 10 : 3693-3702.
 66. SWAN M.A., VISHWANATH R., WHITE I.G., BROWN-WOODMAN P.D. : Electron microscopic observation of gossypol on rat cauda epididymis. *Z. Mikrosk. Anat. Forsch.*, 1990, 104 : 273-286.
 67. TEGELMANN R., BROSENS J.J., KAPPLER-HANNO K., IVELL R., KIRCHHOFF C. : Epididymal epithelium immortalized by simian virus 40 large T-antigen : a model to study epididymal gene expression. *Mol. Hum. Reprod.*, 2001, 7 : 935-945.
 68. TESSAROLLO L., NAGARAJAN L., PARADA L.F. : c-ros : the vertebrate homolog of the sevenless tyrosine kinase receptor is tightly regulated during organogenesis in mouse embryonic development. *Development*, 1992, 115 : 11-20.
 69. UMAR A., OOMS M.P., LUIDER T.M., GROOTEGOEDE J.A., BRINKMANN A.O. : Proteomic profiling of epididymis and vas deferens : identification of proteins regulated during rat genital tract development. *Endocrinology*, 2003, 144 : 4637-4647.
 70. URSINI F., SABINA H., KIESS M. et al. : Dual function of the selenoprotein PHGPx during sperm maturation. *Science*, 1999, 285 : 1393-1397.
 71. VAN PRAET O., ARGRAVES W.S., MORALES C.R. : Co-expression and interaction of cubilin and megalin in the adult male rat reproductive system. *Mol. Reprod. Dev.*, 2003, 64 : 129-135.
 72. VERNET P., FAURE J., DUFAURE J.P., DREVET J.R. : Tissue and developmental-distribution, dependance upon testicular factors and attachment to spermatozoa of GPX5, a murine epididymis-specific glutathione peroxidase. *Mol. Reprod. Dev.*, 1997, 47 : 87-98.
 73. VERNET P., FULTON N., WALLACE C., AITKEN J. : Analysis of reactive oxygen species generating systems in rat epididymal spermatozoa. *Biol. Reprod.*, 2001, 65 : 1102-1113.
 74. VERNET P., RIGAUDIERE N., GHYSELINCK N.B., DUFAURE J.P., DREVET J.R. : *In vitro* expression of a mouse tissue-specific glutathione peroxidase-like cDNA lacking the selenocysteine codon can protect stably transfected mammalian cells against oxidative damage. *Biochem. Cell Biol.*, 1996, 74 : 125-131.
 75. VERNET P., ROCK E., MAZUR A., RAYSSIGUIER Y., DUFAURE J.P., DREVET J.R. : Selenium-independent epididymis-restricted glutathione peroxidase 5 protein (gpx5) can back-up failing Se-dependent GPXs in mice subjected to selenium-deficiency. *Mol. Reprod. Dev.*, 1999, 54 : 362-370.
 76. WAGENFELD A., YEUNG C.H., LEHNERT W., NIESCHLAG E., COOPER T.G. : Lack of glutamate transporter EAAC1 in the epididymis of infertile c-ros receptor tyrosine-kinase deficient mice. *J. Androl.*, 2002, 23 : 772-782.
 77. WEISS K.H., JOHANSEN C., TIELSCH A. et al. : Malformation of the radial glial scaffold in the dentate gyrus of reeler mice, scrambler mice, and ApoER2/VLDLR-deficient mice. *J. Comp. Neurol.*, 2003, 460 : 56-65.
 78. XU Y., YEUNG C.H., SETIAWAN I. et al. : Sodium-inorganic phosphate cotransporter NaPi-lib in the epididymis and its potential role in male fertility studied in a transgenic mouse model. *Biol. Reprod.*, 2003, 69 : 1135-1141.
 79. XU Y., WAGENFELD A., YEUNG C.H., LEHNERT W., COOPER T.G. : Expression and location of taurine transporters and channels in the epididymis of infertile c-ros receptor tyrosine kinase-deficient and fertile heterozygous mice. *Mol. Reprod.*

80. YEUNG C.H., ANAPOLSKI M., COOPER T.G. : Measurement of volume changes in mouse spermatozoa using an electronic sizing analyzer and a flow cytometer : validation and application to an infertile mouse model. *J. Androl.*, 2002, 23 : 522-528.
81. YEUNG C.H., ANAPOLSKI M., SIPILA P. et al. : Sperm volume regulation : maturational changes in fertile and infertile transgenic mice and association with kinematics and tail angulation. *Biol. Reprod.*, 2002, 67 : 269-275.
82. YEUNG C.H., COOPER T.G. : Effects of ion-channel blocker quinine on human sperm volume, kinematics and mucus penetration, and the involvement of potassium channels. *Mol. Hum. Reprod.*, 2001, 7 : 819-828.
83. YEUNG C.H., SONNENBERG-RIETHMACHER E., COOPER T.G. : Infertile spermatozoa of c-ros tyrosine kinase receptor knockout mice show flagellar angulation and maturational defects in cell volume regulatory mechanisms. *Biol. Reprod.*, 1999, 61 : 1062-1069.
84. YEUNG C.H., SONNENBERG-RIETHMACHER E., COOPER T.G. : Receptor tyrosine kinase c-ros knockout mice as a model for the study of epididymal regulation of sperm function. *J. Reprod. Fertil.*, 1998, 53 : 137-147.
85. YEUNG C.H., WAGENFELD A., NIESCHLAG E., COOPER T.G. : The cause of infertility of male c-ros tyrosine kinase receptor knockout mice. *Biol. Reprod.*, 2000, 63 : 612-618.
86. YU Z.H., CHAN H.C. : Gossypol and hypokalemia : a critical review. *Adv. Contracept. Deliv. Syst.*, 1994, 10 : 23-33.
87. ZANEWELD L.J., WALLER D.P. : Nonhormonal mediation of male reproductive tract damage : data from contraceptive drug research. *Prog. Clin. Biol. Res.*, 1989, 302 : 129-149.
88. ZHOU L.F., QI S.Q., LEI H.P. : Effect of gossypol acetic acid on the epididymis : histochemical and scanning electron microscope studies. *J. Ethnopharmacol.*, 1987, 20 : 39-43.

erty of male gametes. Although the complex phenomena of secretion and reabsorption leading to remodelling of spermatozoa and acquisition of their capacity to recognize and fertilize the ovum are far from being fully elucidated, major progress has been made concerning the physiology of the mammalian epididymis. After a brief review of the activities of epididymal epithelium, the authors discuss the main lines of research for the development of future post-testicular contraceptive strategies with particular emphasis on the cases of infertility encountered in recent generations of various models of transgenic mice.

Key words: *epididymis, contraception, spermatozoa, transgenic models of post-testicular infertility*

Communication au XX^e Congrès de la Société d'Andrologie de Langue Française, Orléans, 11-13 décembre 2003.

Manuscrit reçu : janvier 2004 ; accepté : février 2004.

ABSTRACT

Epididymal contraception: state of research and prospects

Joël R. DREVET

The development of new contraceptive strategies is a major economic challenge. The epididymis, the site of post-testicular maturation of spermatozoa, has recently become the subject of research as a target organ for the development of new contraceptive approaches in mammals. The epididymis, which transports and stores spermatozoa (in most mammals), is a key organ, due to its various functions, in the acquisition of the fertilizing pro-