

PLAN DU COURS

- I. Du point de vue du Spz
- II. Du point de vue de l'Ovocyte
- III. Phénomènes cellulaires de la fécondation
 - A. La traversée du cumulus oophorus
 - B. Fixation sur la zone pellucide
 - C. La réaction acrosomique
 - D. La traversée de la zone pellucide
 - E. Activation de l'ovocyte
 - F. Formation des pronoyaux
 - G. Caryogamie: prise de contact des pronoyaux
 - H. Conséquences de la fécondation
 - I. Anomalie de la fécondation: Avortement précoce

La fécondation est une étape de la reproduction sexuée assurant la **création d'un nouvel individu** par fusion de 2 gamètes: **spz** et **ovotide**.

Il existe deux types de fécondation:

- **La fécondation externe**: dépôt de spz dans l'eau immédiatement après la ponte: amphibien et la plupart des poissons.
- **La fécondation interne**: dépôt des spz dans les voies génitales: tous les oiseaux, reptiles et mammifères, certains poissons osseux, les requins.

Phénomènes préparatoires à la fécondation:

- **Au niveau des spz**: Transport, Survie et Capacitation
- **Au niveau de l'ovocyte**: Collecte, Transport et survie

I. Du point de vue du Spz

- **Dépôt des spz**: insémination dans le vagin du voisinage du col utérin, 200 à 300 millions de spz. Les spz ont une durée de vie limitée: pH acide vaginal sera tamponné par le liquide séminale.
- **Traversée du canal cervical**:
 - Dépend de la **mobilité des spz**
 - **Sécrétion de glaire cervicale** par les glandes du col utérin en période périovulatoire: **12 au 14^{ième} jour** d'un cycle de 28 jours.
Lorsque la **sécrétion d'oestradiol est faible**, les glycoprotéines qui constituent la glaire forment un **réseau très serré** et la sécrétion de **glair cervicale est peu abondante** et qui rend **impénétrable aux spz**.

Dans la **période périovulatoire**, sous l'influence de l'oestradiol sécrété par le follicule ovulatoire, la sécrétion de glaire cervicale devient abondante, les mailles du réseau glycoprotéines deviennent lâches et laissent passer les spz.

Dans la seconde partie du cycle ovarien, la **sécrétion de progesterone** par le corps jaune provoque un **raffermissement progressif** de la sécrétion de **glair**. L'action de la progesterone sur la glaire cervicale est comparable à l'action de certaines pilules abortives/contraceptives. **La glaire cervicale** peut contenir des **anticorps anti-spz** responsables de stérilité. Sélectionne les spz mobiles en quantité réduite: seul **2-3 millions de spz** parviennent dans l'**utérus**.

La réduction du nombre de spz vise à réduire le risque de **Polyspermie** (fécondation de l'ovocyte par plusieurs spz).

- **La traversée de l'utérus est régie par 2 paramètres:**
 - La **mobilité** des spz
 - **Contraction** du muscle lisse utérin ou **Myomètre**. Ces contractions sont particulièrement efficaces et fréquentes en période péri-ovulatoire sous l'**action des oestrogènes**. Seul **les spz les plus vigoureux** vont traverser la cavité utérine, de sorte qu'on en trouve que **quelques milliers** à la **jonction utéro-tubaire** (segment intersticiel de la trompe de Fallope).
 - **24h après l'insémination**, la cavité utérine est envahie par des **macrophages** qui phagocytent et détruisent les spz morts.
- **Traversée des trompes utérines**
 - Durant la période périovulatoire, la **partie isthmique** est le siège d'une **sécrétion visqueuse** dans laquelle **les spz** sont momentanément **immobilisés**.
 - Libération par **vagues successives** (quelques dizaines).
 - Les spz redeviennent **mobiles** dans l'**ampoule tubaire**.
 - Le but du **stockage isthmique** est double:
 - Permet la **survie des spz** pendant 3 à 4 jours ce qui augmente leur chance de rencontre avec l'ovocyte
 - **Diminution du risque de polyspermie**
 - Le reste des spz peuvent traverser la trompe sur toute la longueur, pour atteindre le pavillon et peuvent passer dans la cavité péritonéale
 - **Un seul spz est fécondant sur les 200-300 millions déposés.**

La **capacitation** est l'ensemble des **modifications** que subit le spz dans les **voies génitales féminines** afin d'acquérir sa **capacité à féconder** immédiatement l'ovocyte. Un spz prélevé à la sortie des testicules ne devient jamais fécondant dans les conditions physiologiques. Il devient **potentiellement fécondant après son transit épидидymaire**, cependant un spz prélevé dans la queue dans l'épididyme ou après éjaculation n'est fécondant qu'après un séjour prolongée dans les voies génitales féminines.

Toutes les sécrétions des voies génitales féminines **sont capable de Capaciter** les spz, à condition toutefois qu'elles soient **fabriquées en période périovulatoire**, cad sous influence d'**Oestrogène**. La durée de la **capacitation a été évalué à 5h**. Le prérequis à la capacitation est **l'élimination du liquide séminal**: au cours de leur transit épидидymaire, les protéines sécrétés par les cellules de l'épididyme viennent se fixer à la surface du spz, contribuant à les rendre plus résistant, ou contribuent au blocage transitoire de la fécondance.

Les autres protéines sécrétées par les glandes annexes mâle viennent se fixer au spz et peuvent contribuer au blocage temporaire de la fécondance. Ces protéines doivent donc être éliminées, et pour ça, le spz doit quitter le liquide séminal. L'élimination du liquide séminal ne suffit pas, par dessus doivent se rajouter les sécrétions féminines sous lesquelles:

- modification de la composition des protéines et lipides de la membrane externe des Spz
- nouveaux changement de mobilité: les spz capacités deviennent hypermobile, c'est à dire que l'amplitude et fréquence de leur flagelle est augmenté.

Récapitulatif:

- **Elimination du liquide séminal**
- **Rester 5h dans des secretions vaginale créées sous influence d'Oestrogène**
- **Elimination des protéines cytoplasmique apportée par le liquide séminal**
- **Modification des protéines et Lipide de la membrane Externe**
- **Acquisition Hypermobilité**

La capacitation des spz est indispensable à la fécondation, pour

- **Reconnaissance des spz de la zone pellucide**
- **Réaction acrosomique**

- **Traversée de la zone pellucide**

II. Du point de vue de l'Ovocyte

- **La collecte de l'ovocyte:** le **pavillon** se gonfle de sang (il devient **Turgescent**) et vient se plaquer contre l'ovaire. Ce reflex vasculaire est important car sinon, l'ovocyte pourrait tomber dans la cavité abdominale
- **La traversée du pavillon est rapide**, elle est **favorisée** par la présence des cellules du **Cumulus Oophorus** (elles permettent une meilleur transition en augmentant la masse cellulaire en mouvement)
- **Le lieu de la fécondation** est le lieu le plus large de la trompe: **ampoule de la trompe**. En l'absence d'ovulation, l'ovocyte n'est pas stocké et sa survie n'excède pas une dizaine d'heure.
- **La migration de l'embryon** se fait vers la cavité utérine est due à la **contraction du muscle lisse tubaire** (facteur essentiel qui mobilise l'ovocyte fécondé) ainsi que les **battements des cils de l'épithélium** de la trompe.
- **La migration tubaire** de l'embryon est **discontinue** par interruption prolongée à la jonction **entre l'ampoule et l'isthme** (3 jours environ). Il y a à ce niveau des **contractions antagonistes** qui s'opposent au trajet de l'embryon.
- **L'embryon fait la segmentation** durant son trajet tubaire, qui consiste en un découpage de l'embryon en cellules de plus en plus petite appelé **Blastomère**.
- L'embryon atteint la **cavité utérine 4 jours après la fécondation**. Il est alors à un stade de segmentation appelé **Morula** et comporte environ 30 cellules/blastomères
- Il faut **4 jours** à l'embryon pour **franchir les 10cm** qui le sépare de la cavité utérine.
- Durant la migration Trans-tubaire, l'embryon **ne se nourrit pas à partir de ses réserves propres**, mais à partir des sécrétions tubaires.

III. Phénomènes cellulaire de la fécondation

A. La traversée du cumulus oophorus

Les cellules folliculeuses baignent dans une solution d'acide hyaluronique retenant beaucoup d'eau. Seul les spz capacités peuvent traverser le cumulus oophorus.

La **Hyaluronidase**, présente à la surface du spz permet cette traversé en clivant localement les molécules d'acide Hyaluronique située entre les cellules folliculeuses. Il existe au niveau du site de fécondation plusieurs spz.

B. Fixation sur la zone pellucide

La zone pellucide est une matrice extracellulaire de nature glycoprotéique qui entoure:

- l'ovocyte depuis le follicule secondaire
- l'embryon jusqu'au stade blastocyste

Elle a 4 fonctions:

- elle **s'oppose** aux **fécondations hétérospécifique** (interspécifique)
- elle **s'oppose à la polyspermie**
- **S'oppose** aux **implantations prématurée** (tubaire)
- **Protège le jeune embryon** contre les effets délétères d'une **exposition prématurée** à l'environnement tubo-utérin.

La zone pellucide est fabriquée **uniquement par l'ovocyte** (sous controle du génotype de l'ovocyte). La fixation sur la zone pellucide fait intervenir un **ligand** qui est la protéine **ZP3** et un

recepteur porté par un **membrane cytoplasmique du spz**. Cette fixation est **spécifique d'espèce**.

Les fonctions de la ZP3

- permet la **formation de la zone pellucide**
- permet la **reconnaissance spécifique d'espèce** entre ovocyte et spz
- permet la **fixation des spz** sur la zone pellucide
- déclenche la **réaction acrosomique**.

C. La réaction acrosomique

Elle est déclenchée par la glycoprotéine ZP3 et consiste en la fusion de la membrane acrosomique externe et de la membrane cytoplasmique de la tête du spz. Cette réaction donne lieu à 2 phénomènes:

- Formation de vésicules membranaire mixte (mb acrosomique externe + mb cytoplasmique)
- Passage entre ces vésicules membranaire du contenu de l'acrosome
- Prise de contact DIRECT de la **membrane acrosomique interne** avec la **zone pellucide**.

D. La traversée de la zone pellucide

Elle est faisable grâce à deux enzymes contenues dans l'acrosome et maintenant accrochées à la **membrane interne de la membrane acrosomique** en contact avec la zone pellucide: **Hyaluronidase** et **Acrosine**.

Les spz sont toujours hypermobiles et ont une force propulsive importante. (seul les spz capités sont capable de faire la réaction acrosomique).

Un espace virtuel **périvittelin** (entre la mb basale et la zone pellucide) contient le 1er globule polaire.

Le premier spz qui a traversé la zone pellucide va fusionner avec la membrane cytoplasmique de l'ovocyte, cette fusion s'opère toujours entre la membrane **post acrosomique** de la tête et la membrane cytoplasmique de l'ovocyte pour des questions de reconnaissance entre les membranes (et aussi parceque la membrane de la partie haute de la tête du spz a été détruite lors de la réaction acrosomique).

Au cours de l'étape de fusion des membranes des gamètes, la totalité de la membrane cytoplasmique du spz est intégrée à la membrane cytoplasmique de l'ovocyte. La totalité du contenu du spz est intégrée au cytoplasme de l'ovocyte. Par contre, une fois dans le cytoplasme de l'ovocyte, tout les constituant des spz seront détruit à l'exclusion du noyau et du centriole proximale (celui qui n'est pas dépendant du flagelle).

Le centriole proximal déterminera l'orientation du fuseau mitotique de la première division de segmentation. Les mitochondries du spz sont toutes éliminées dans le cytoplasme de l'ovocyte. Les mitochondries contiennent une molécule d'ADN circulaire bicaténaire portant 37 gènes dont les mutations peuvent être à l'origine de maladie neuro-musculaire extrêmement graves qui ne seront transmises que par la mère, c'est une **hérédité mitochondriale** ou **hérédité maternelle**.

Contrairement à l'étape de traversé de Zone Pellucide, **la fusion des gamètes n'est pas spécifique d'espèce**, il est ainsi possible de féconder des ovocytes de hamsters préalablement dépellucidés avec des spz humain. Utilisé autrefois pour bilan de stérilité, mais peu fiable.

La barrière qui s'oppose aux fécondations interspécifique est la zone pèllucide

E. Activation de l'ovocyte

Elle a un double but:

- Provoquer le **réveil** du métabolisme **ovocytaire**
- S'oppose à la **polyspermie**

Elle comporte dans l'ordre chronologique:

- Activation du **calcium intracellulaire**
 - Changement du **potentiel transmembranaire** de l'ovocyte
 - Exocytose des **granules corticaux**
 - Achèvement de la **2ième division** de la **méiose**
-
- **Libération du calcium intraovocytaire** se fait très rapidement à partir des réserves d'ions calcium accumulé dans le REL de l'ovocyte lors de sa phase de croissance. Ce calcium passe dans le cytosol et active une cascade de phénomènes biochimiques.
L'importance de la libération de calcium a été mise en évidence par:
 - Il est possible d'avoir une activation complète de l'ovocyte en l'absence de spz en microinjectant du calcium ionisé
 - L'activation induite par la fusion du spz et de l'ovocyte peut être totalement inhibée lorsqu'on microinjecte un chélateur du calcium
 - **Modification du potentiel transmembranaire** de l'ovocyte du a une augmentation de la perméabilité de la membrane cytoplasmique aux ions potassium. Ce phénomène électrique constitue un moyen rapide mais extrêmement transitoire pour empêcher la polyspermie. Joue un rôle minime chez l'espèce humaine
 - **Exocytose des granules corticaux**: ce sont des organites intracellulaire ressemblant à des lysosomes, et qui s'accumulent sous la membrane cytoplasmique de l'ovocyte mur. Sous l'effet de la libération du calcium intraovocytaire, ces granules corticaux vont fusionner avec la membrane cytoplasmique de l'ovocyte et verser leur contenu dans l'espace périvitellin. Ce contenu est essentiellement des enzymes qui vont modifier la structure de la zone pellucide et en modifient la structure.
La modification des glycoprotéines de la ZP va avoir deux conséquences:
 - ZP3 est modifié, donc plus aucun Spz ne pourra se fixer à la ZP
 - La modification de toutes les protéines de la ZP, rend cette structure impénétrable aux spz qui étaient en train de la traverser.Ce mécanisme est essentiel qui dans l'espèce humaine qui assure la **monospermie**.
 - **Achèvement de la 2ième division meiotique**, sous l'action du calcium, l'ovocyte va achever sa seconde division de la méiose (Anaphase Metaphase Telophase, Cytocinèse), et va se diviser en deux cellules: Ovotide et le second globule polaire. Cette division inégale permet le maintien dans une seule cellule (l'ovotide) des réserves cellulaires accumulées durant la phase de croissance.

F. Formation des pronoyaux

La formation des pronoyaux est précédée par la décondensation du noyau spermatique, en effet une fois dans le cytoplasme de l'ovotide, l'enveloppe nucléaire du spz disparaît et sa chromatine se décondense, cette décondensation de la chromatine du noyau spermatique implique le **remplacement** des **protamines** par des **histones** classique.

Une enveloppe nucléaire se reconstruit autour de la chromatine du pronoyau mâle, de même autour de la chromatine en voie de décondensation du pronoyau femelle.

Ces deux pronoyaux sont initialement localisés dans le cytoplasme périphérique de l'ovotide: cortex ovulaire. Ils vont répliquer simultanément leur ADN, indispensable à la première division de segmentation.

G. Caryogamie: prise de contact des pronoyaux

Les pronoyaux vont migrer vers le centre de l'oeuf fécondé puis prennent contact l'un avec l'autre, puis ils sont chacun le siège d'une prophase (et juste une prophase) au cours de laquelle s'individualisent les chromosomes et les enveloppes nucléaires disparaissent. Dans chacun des pronoyaux s'individualisent 23 chromosomes.

Dans la seconde partie de la prophase ou pro-métaphase, ces chromosomes viennent se placer dans un plan unique appelé **Plan Equatorial de la première division de segmentation**. Ce regroupement des chromosomes maternel et paternel marque la fin de la méiose et le début du développement embryonnaire.

A T=30h, il y a un fuseau métaphasique mais plus uniquement ovocytaire comme c'était le cas avant, mais embryonnaire.

H. Conséquences de la fécondation

- **Rétablissement** du nombre **diploïde** de chromosomes
- **Brassage** des caractères héréditaires de l'espèce
- Détermination du **sexe génétique**
 - Les gamètes Mâles sont hétérogamétiques
 - Androspz (23,Y)
 - Gynospz (23,X)
 - Les gamètes Femelles sont homogamétique (23,X)
- Déclenchement de **l'ontogenèse**

I. Anomalie de la fécondation: Avortement précoce

- **Triploïdie**: un individu possède 3x le nombre haploïde de chromosomes (69 chez l'homme)
 - Dispermie: ovocyte fécondé par deux spz
 - Digynie: anomalie de la méioseCompatible avec un début de développement mais ne donne pas de nouveau né.
- **Tetraploïdie**: endoréplication chromosomique (réplication sans division cellulaire) d'un ovocyte déjà fécondé.
- **Chimère** par double fécondation, exceptionnel. Individu porteur de deux populations cellulaires de caryotype différents, chacune étant dérivée d'un ovocyte fécondé différent. Il faut que l'ovocyte effectue une division en deux cellules de taille égale: le 2ème globule polaire aura une partie du cytoplasme, et il faut que les 2 entités soient fécondées par un spz différent.
 - Hérmaprodisme vrai: si une cellule est fécondé par un androspz et l'autre par un gynospz.
- **Androgenèse** est un développement à partir du seul spz, le noyau de l'ovotide est détruit ou non fonctionnel. En l'absence d'un phénomène de compensation, les cellules seront haploïdes. Incompatible avec le développement, mais abouti à une tumeur placentaire: môle **hydatiforme** (*Hydatiforme: qui ressemble à une poche d'eau*) épaulé par un rétablissement du nbr de chromosome à caryotype (46 XX) bizarrement
- **Parthénogenèse** (*Reproduction sans fécondation*) est un phénomène de développement mais sans fécondation préalable, donc à partir du seul noyau de l'ovocyte. Elle aboutie à une tumeur ovarienne, kyste **Dermoïde** ou **termatome ovarien** (*Teratome: monstre*) à (46,XX). Ces kystes contiennent des tissus embryonnaires (peau, thyroïde, dents...)