

La Fécondation

Voici la ronéo, erratées, en couleur. Je l'ai gardé en tant que fiche car elle était super bien ! Bon courage 😊

I. Le trajet spermatique

Afin de réaliser la fécondation, il va falloir réaliser un long parcours qu'on peut appeler « la traversée du désert ». Finalement, il n'y aura qu'un seul gagnant sur toute la production de gamètes masculins.

A - L'éjaculation

1. Remplissage puis émission

Le point de départ du trajet reste les testicules, ou plus exactement l'épididyme. En effet, les spermatozoïdes sont concentrés et stockés dans l'épididyme avant d'être évacués pour rejoindre le tractus génital féminin.

Rappel : les spermatozoïdes non éjaculés sont détruits ; il n'y a pas de possibilité d'augmentation du volume testiculaire.

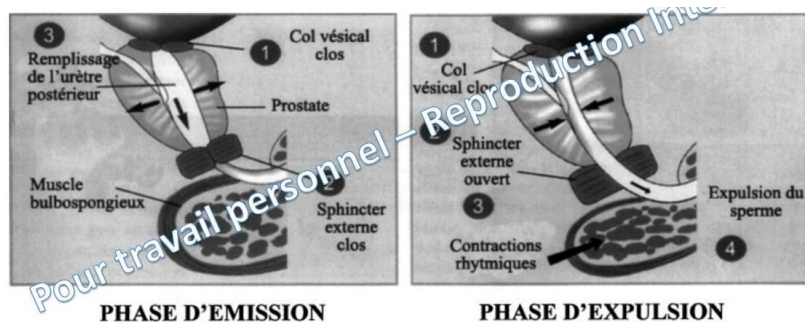
Pour faire sortir les spermatozoïdes, il faut une éjaculation.

Cette éjaculation est permise par un verrouillage absolu des sphincters péri-prostatiques : le sphincter externe et le sphincter interne (celui-ci est présent juste sous le col vésical).

Si ces sphincters ne sont pas bloqués, on ne peut pas faire venir de liquide séminal et de spermatozoïdes dans la dernière partie de l'urètre pour l'éjaculation.

Pendant le rapport sexuel, les sphincters se bloquent et les canaux se remplissent de spermatozoïdes (provenant de l'épididyme et du canal déférent) et de liquide séminal (produit à 70% par les vésicules séminales et la prostate).

Au moment même de l'éjaculation, le sphincter externe s'ouvre tandis que le sphincter interne reste fermé afin d'éviter une miction durant le rapport.



Après l'éjaculation, de manière spontanée le col vésical **se ferme** pendant un certain temps du fait d'une innervation musculaire lisse. Tant que le col vésical reste fermé, il n'est pas possible d'avoir de miction post éjaculatoire. Cela correspond à **la période réfractaire** durant laquelle il n'est pas possible d'avoir d'érection. C'est un phénomène physiologique.

2. L'éjaculat

- ♥ Le volume éjaculatoire est entre 2 et 6 ml.

Rappel : ce n'est pas la peine de se venter sur son volume d'éjaculat important car de toute façon cela veut dire qu'il y a un problème infectieux.

- ♥ Il y a entre 20 et 200 millions de spz/ ml de sperme. La concentration est très variable car elle dépend des séances de masturbation ou des rapports sexuels qui auraient eu lieu avant. (Si on s'est masturbé 4 ou 5 fois dans la journée à la fin il y aura moins de spermatozoïdes)

Après éjaculation, il y a une coagulation rapide et quasi immédiate du sperme. La coagulation est due à l'effet d'une protéine dans le liquide spermatique : **la séménogéline**.

Comme la reproduction est interne, le sperme est déposé dans le vagin. La coagulation va permettre au sperme de ne pas se perdre dans l'appareil génital féminin et de rester à un seul endroit à proximité du col utérin.

Après la coagulation, on assiste à une liquéfaction. Cette liquéfaction dure 20 à 30 minutes et est due à la dégradation de la séménogéline par une enzyme : **la PSA**. Cette enzyme est également présente dans le sperme et est fabriquée par la prostate. Le sperme décoagule et se liquéfie.

Les pertes observées après un rapport correspondent en fait à une évacuation de liquide séminal **sans** les spermatozoïdes. Le but c'est que les spermatozoïdes passent des culs de sacs vaginaux jusqu'à l'entrée du col utérin durant ces 20-30min afin de s'y nicher. Cela évite aux gamètes d'être perdus lorsque mademoiselle ou madame se relève.

La survie des spermatozoïdes est possible grâce à la différence de PH entre le vagin et le liquide séminal. En effet, **le PH du vagin est relativement acide** comparé au reste de l'organisme (pas autant que l'acide gastrique). Si on laisse les spermatozoïdes seuls dans la cavité vaginale ils seront détruits par cette acidité. De ce fait, le liquide séminal au PH plus alcalin servira de tampon pour avoir in fin un PH neutre.

B - Quelques méthodes contraceptives

Méthode OGINO

Elle consiste à ce que la fille mesure sa température corporelle tous les matins. Ceci a pour but de repérer le moment de l'ovulation. Lors de celle-ci, il y aura un léger changement de température avec une augmentation d'environ 0,3-0,4°C. Pour autant, se mettre un thermomètre dans les fesses tous les jours, à la même heure et dans les mêmes conditions, ce n'est pas forcément très agréable. Evidemment cette méthode contraceptive a été inventé par « un mec FORCÉMENT très misogyne » et **elle ne marche absolument pas**.

Méthode d'acidification du vagin

Encore utilisé par certaines personnes. Des spermicides sont déposés dans la cavité vaginale. Les éponges spermicides vont avoir un PH extrêmement acide pour tuer les spermatozoïdes.

Méthode du retrait

« Sauter du train en marche ». Il s'agit de laisser sa confiance à un garçon en espérant qu'il maîtrise son sphincter. **Cette méthode ne marche pas** car « même si c'est un grand maître du sphincter ! » il y aura forcément quelques gouttes qui auront traversé sachant qu'un seul spermatozoïde suffit.

Méthode Billings (naturelle grâce à la glaire cervicale) Le col utérin est une barrière très efficace.

A l'intérieur du col, on retrouve un mucus : c'est la glaire cervicale. Certaines jeunes filles prélèvent leur glaire régulièrement. En effet, celle-ci change d'aspect durant le cycle et permet donc de se repérer.

En fonction de la filasse de la glaire (regarder si elle s'écarte plus ou moins entre les doigts) on est capable de savoir si notre rapport sexuel sera susceptible d'aboutir à une fécondation ou non. Cf en dessous

C - Le passage du col de l'utérus

- ♥ Au niveau du vagin, on retrouve 100% des spermatozoïdes de l'éjaculat (à supposer qu'on n'en a pas perdu en route).
- ♥ Au niveau du col utérin, on en perd 97% : on n'a plus que 3% des spermatozoïdes.

Souvent, on considère cette zone comme la « porte du château fort imprenable », car « un pont levé » bloque toute entrée des spermatozoïdes dans l'utérus.

En effet, à l'intérieur du col, la paroi n'est absolument pas lisse comme la paroi du vagin. On peut voir des cryptes et une muqueuse.

D'un point de vue histologique, **l'épithélium de l'exocol (relié au vagin) est extrêmement différent de celui de l'endocol (relié à l'utérus)**

Des glandes vont sécréter du mucus : c'est la fameuse glaire cervicale.

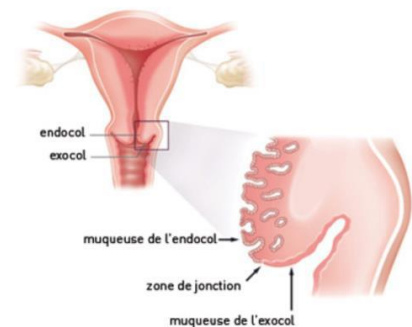
Quand on fait un frottis, chez les jeunes filles, on regarde ce qu'il se passe au niveau du col. On rentre une petite « brosette » afin de récupérer des cellules de l'exocol et de l'endocol. En effet, le cancer du col de **l'utérus se fait à la jonction endocol-exocol**. Un des virus qui peut être responsable du cancer du col : c'est le HPV ; Comme on est dans une société très misogyne, seules les filles vont soumise à la vaccination du HPV alors que ce sont les garçons qui apportent le virus qui ne rentre pas tout seul !!!

Pourquoi la glaire cervicale est une méthode contraceptive ?

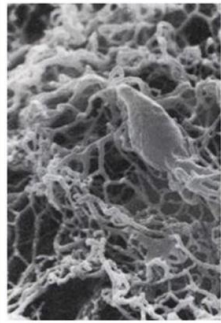
La glaire cervicale forme un maillage : réseau de glycoprotéines denses impénétrable aux spermatozoïdes.

On peut voir un spermatozoïde niché dans la glaire cervicale

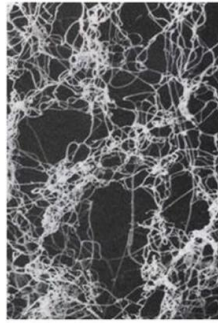
Le seul moment où la glaire cervicale laisse passer les spermatozoïdes : c'est durant la période ovulatoire. ++ **En effet, les œstrogènes sont capables de rompre le maillage de la glaire et donc de laisser passage aux spermatozoïdes.**



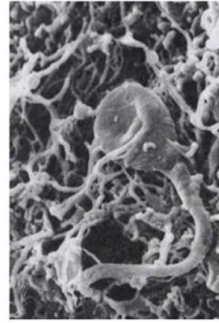
A contrario, **un des rôles de la progestérone est notamment de rendre cette glaire imperméable aux spermatozoïdes**. Concernant les méthodes contraceptives pharmacologiques, les progestatifs utilisés ont pour rôle d'assurer ce verrou cervical (en plus du blocage de l'ovulation).



Phase folliculaire

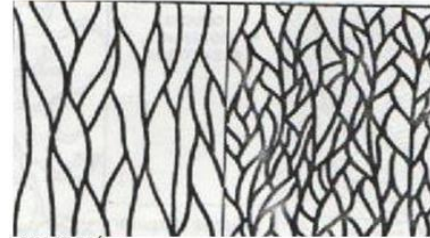


Phase ovulatoire



Phase lutéale

Organisation fibrillaire du mucus cervical



PHASE PRÉ
OVULATOIRE

PHASE LUTÉINIQUE

D - La capacitation

1. Généralités

Rappel : Dans l'épididyme, les spermatozoïdes ont perdu leur pouvoir de fécondance.

De ce fait, **la capacitation va pouvoir rendre au spermatozoïde leur pouvoir de fécondance**.

Cette capacitation n'est pas immédiate après éjaculation et sa durée est extrêmement variable selon les espèces +++

Cela dépend majoritairement de la longueur du trajet utérin.

- ♥ Chez la souris c'est relativement rapide : 30 min
- ♥ **Chez l'homme : il faut 6 à 7h pour capaciter le spermatozoïde**

La capacitation est possible qu'à partir du moment où il n'y a plus de liquide séminal.

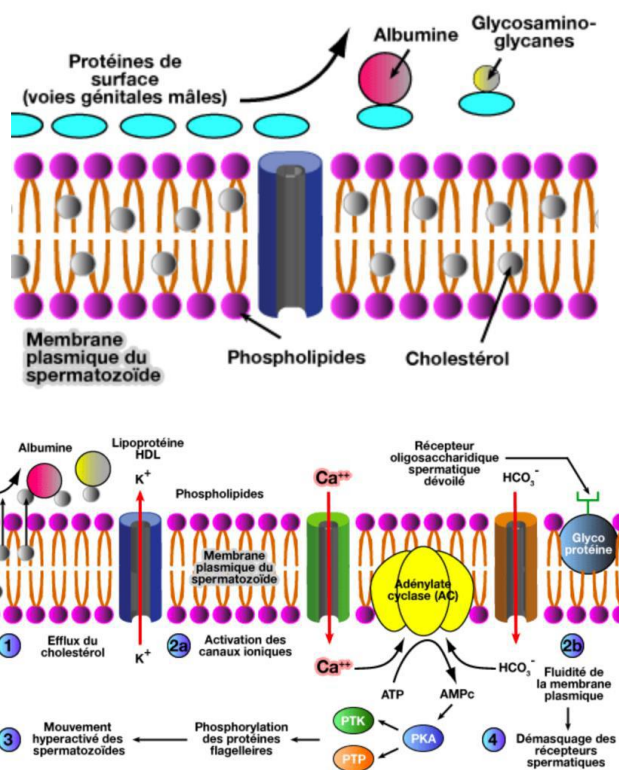
Physiologiquement, le spermatozoïde ne peut pas être capacité tant qu'il n'est pas rentré dans le col de l'utérus car il sera toujours en contact avec le liquide séminal.

La capacitation :

- ♥ Enlève les protéines de la membrane du spermatozoïde
- ♥ Modifie la fluidité de la membrane en réorganisant la répartition des phospholipides et du cholestérol → influx calcique
- ♥ Expose les sites d'interaction avec le gamète féminin (les récepteurs)

2. Les réactions moléculaires

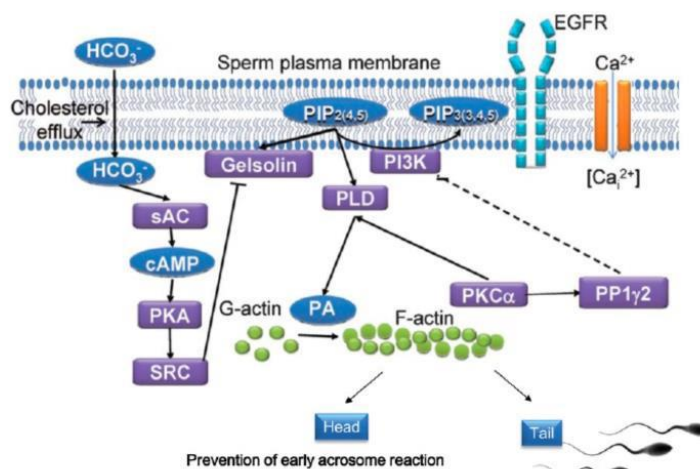
- ♥ Présentes dans le tractus génital, l'albumine et les glycosaminoglycanes vont interagir. Cette interaction va permettre de capter les protéines de surface du spermatozoïde et de les enlever.
- ♥ Une fois les protéines de surfaces enlevées, on observe une modification de répartition du cholestérol. Il s'enlève de la membrane cellulaire qui par conséquent se fluidifie.
- ♥ De ce fait, un flux de calcium rentre dans la cellule.
- ♥ L'Adénylate cyclase s'active alors et produit ainsi de l'AMPc qui servira à activer la phosphokinase A.



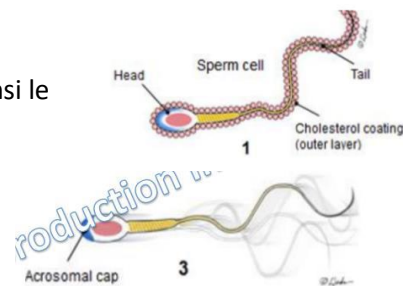
Le but est d'entraîner un mouvement hyperactif du spermatozoïde.

Rappel : Dans l'épididyme, le spermatozoïde commence à acquérir sa mobilité active. Mais « le moment où on réveille un mec à 7h du mat, il ne faut pas croire qu'il est capable de faire un sprint à 7h05, il faut un minimum de mise en route avant le grand effort physique ». La capacitation permet de réveiller le spermatozoïde avant son grand trajet (utérus puis trompe).

- ♥ L'entrée de calcium est accompagnée d'une entrée d'ion bicarbonate HCO₃⁻.
- ♥ L'activation de la phosphokinase A permet de maintenir la polymérisation de l'actine indispensable au mouvement des microtubules.



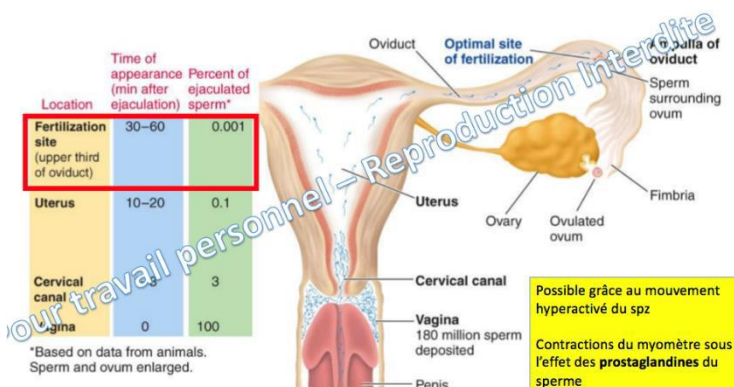
On passe d'un spermatozoïde recouvert de cholestérol, à un spermatozoïde dépourvu de cholestérol membranaire libérant ainsi le flagelle **pouvant effectuer son mouvement final**.



E – Du col de l'utérus à l'ampoule

Le spermatozoïde doit passer du col utérin à l'ampoule tubaire.

Entre le canal cervical et l'arrivée dans l'utérus, **la quantité de spermatozoïdes a encore été divisé par 100**. De nouveau ; plus on avance plus on perd des spermatozoïdes.



- ♥ Certains s'arrêtent par leur mouvement insuffisamment activé : ils se posent dans la cavité utérine et meurent
- ♥ Certains vont emprunter le mauvais chemin : malgré le **chimiotactisme** (= fait d'être attiré par des substances chimiques) qui a lieu au niveau de la trompe dans le liquide folliculaire, il y a quand même des spermatozoïdes « des têtes brûlées » qui vont partir du mauvais côté

Le trajet du spermatozoïde est d'une part possible grâce à son mouvement hyperactif, d'autre part grâce **aux contractions** du myomètre après le rapport. Ces contractions facilitent le passage du spermatozoïde jusqu'à l'ovocyte.

Les contractions de l'utérus sont dues à des prostaglandines contenues dans le liquide séminal. Si l'orgasme est correctement atteint, des contractions du myomètre peuvent être suffisante pour induire, au-delà du plaisir, des douleurs chez les filles. Après l'orgasme, les contractions peuvent persister par la présence des prostaglandines.

D'un point de vue pharmacologique, **les prostaglandines sont utilisées lors de l'accouchement**. Le but est d'induire les contractions de l'utérus pour l'expulsion du bébé. Par ailleurs, elles permettent également la maturation du col utérin pour qu'il s'ouvre.

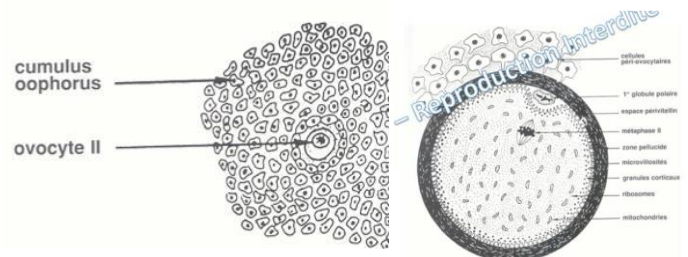
Récap :

- ♥ Les prostaglandines contenues dans le liquide séminal peuvent induire des contractions du myomètre
- ♥ Grâce aux prostaglandines, les contractions du myomètre facilitent le passage des spermatozoïdes dans la trompe
- ♥ Les prostaglandines sont utilisées lors de l'accouchement pour ouvrir le col de l'utérus et induire des contractions du myomètre
- ♥ Malgré le chimiotactisme et le mouvement hyperactivé du flagelle, le nombre de spermatozoïdes diminue

II. La traversée des enveloppes péri ovocytaires

A - La traversée du cumulus

Une fois que le spermatozoïde a trouvé son bon chemin, il doit ensuite traverser les enveloppes qui entourent l'ovocyte.



Rappel : Lorsque l'ovocyte a été expulsé de l'ovaire, il est parti avec les cellules du cumulus et ne se balade pas seul dans la trompe. Certaines de ces cellules sont détruites mais il en reste un certain nombre.

La traversée est possible grâce au mouvement hyperactivé du flagelle.

Par ailleurs, l'acide hyaluronique très présent dans le cumulus permettait de le compacter. Dans les sécrétions tubaires, **on retrouve des hyaluronidases qui vont détruire l'acide hyaluronique. Au fur et à mesure, ces cellules du cumulus se disloquent et le spermatozoïde peut passer plus facilement.**

Récap : La traversée du cumulus est possible grâce aux hyaluronidases retrouvées dans la trompe et au mouvement hyperactivé du flagelle

B - La réaction acrosomique

Quand on approche de l'ovocyte, le spermatozoïde réalise la réaction acrosomique. Sans elle, la fécondation ne sera pas possible.

Prérequis :

Le spermatozoïde doit être capable +++

« Dans les techniques de fécondation in vitro, on n'a pas de capacitation car il n'y a pas de contact avec le col utérin. Par conséquent, le spermatozoïde n'est pas capable de réaliser la réaction acrosomique et de pénétrer l'ovocyte. Le travail devra être fait à sa place. »

La zone pellucide autour de l'ovocyte possède 4 glycoprotéines particulières : **ZP1, ZP2, ZP3 (la plus externe) et ZP4 (dont la fonction est inconnue).**

La réaction commence lorsque le spermatozoïde touche la zone pellucide ++ via ZP3.

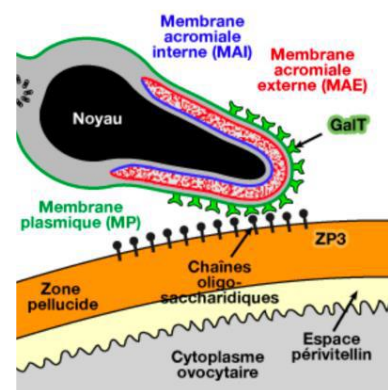
Ce premier contact, grâce à **ZP3**, répond à une **spécificité des espèces ++** : La ZP3 humaine n'est pas capable de rentrer en contact avec le récepteur du spermatozoïde de ZP3 du cobaye ou du hamster par exemple. Et vice versa. Naturellement, des espèces différentes ne peuvent pas se reproduire par la spécificité de ZP3.

Vous pouvez faire toutes les expérimentations animales possibles, il est impossible de faire des mélanges d'espèces naturellement entre un spz d'une espèce A avec un ovocyte d'une espèce B tant qu'il y a la ZP autour de l'ovocyte. Il faudra dé-pellucider pour arriver à traverser les enveloppes.

Chez la souris on sait exactement comment ça se passe mais chez l'Homme (même si on est bientôt en 2020), on a encore des éléments manquants.

Chez la souris, on sait que c'est une interaction :

- ♥ Entre bêta 1,4-galactosyltransférase de la membrane du spz
- ♥ Avec les chaînes oligosaccharidiques de type O-lié à ZP3



Chez l'homme, pour l'instant ce qu'on connaît c'est qu'on a, non pas **une galactosyltransférase mais une alpha-D-mannosidase** et +/- autres protéines dont SP95 (mais il n'y a pas quelle qui va rentrer en jeu).

D'un point de vue cinétique, on a ici le spz avec son noyau extrêmement condensé, l'acrosome (en rouge sur diapo), la mb plasmique avec entre les deux la mb acrosomique ou acrosomal externe et interne (contre le noyau)

Il va y avoir une fusion ponctuelle de la membrane plasmique (MP) avec la membrane externe de l'acrosome (MAE)

Entre ZP3 de la ZP et son récepteur qui est porté par la membrane du spz

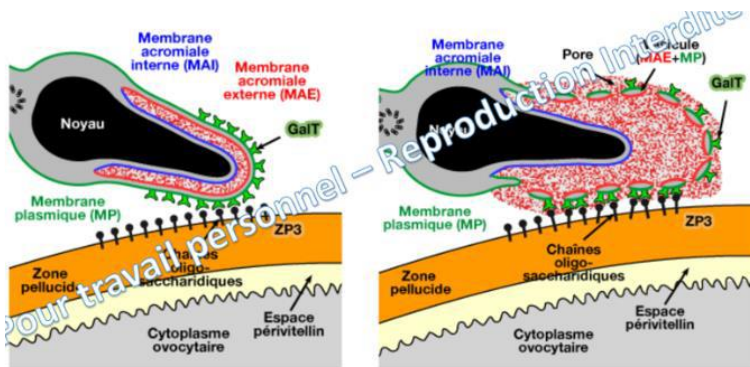
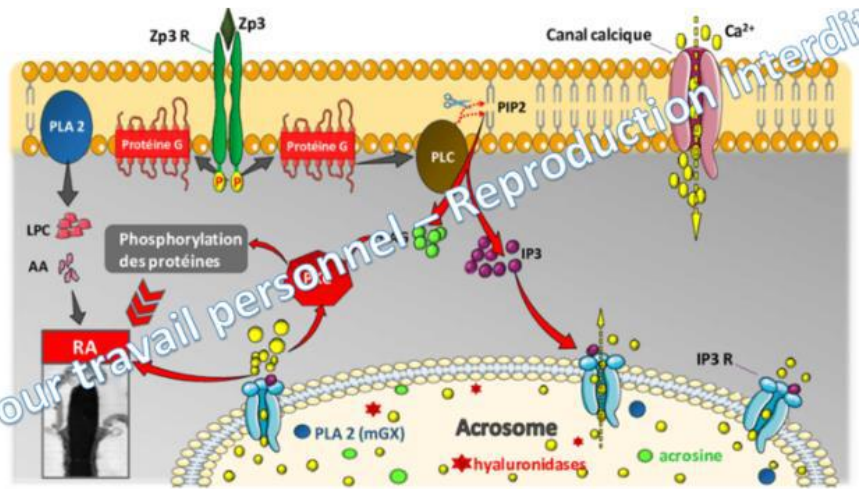
Du moment qu'il y a cette interaction (la fixation de ZP3 à son récepteur), cela entraîne :

- ⇒ Une activation de la phospholipase A (PLA) liée à
- ⇒ Une entrée massive de calcium dans la cellule donc dans le spz
- ⇒ Cette entrée de calcium va permettre la libération du contenu de l'acrosome (déstabilisation de la membrane et fission) et du moment où l'acrosome va se libérer, la mb externe de l'acrosome va commencer à être digérée et il va y avoir une fusion ponctuelle : des trous vont se former entre les membranes. Il y a donc une fusion entre la mb acrosomique externe et la mb plasmique.

D'un point de vue moléculaire, il y a une liaison de ZP3 à son récepteur, une activation de la phospholipase C avec une production d'IP3, une activation de la phosphokinase C et donc l'entrée massive de calcium.

Qu'est-ce qu'il se passe quelques minutes plus tard ?

On a effectivement une fusion entre les membranes, des trous qui vont se créer : les pores et donc une libération du contenu de l'acrosome autour du spz. Cette libération du contenu de l'acrosome va digérer la ZP et donc va complètement disloquer l'association des glycoprotéines (les ZPs). On va avoir progressivement une entrée du spz dans la ZP.

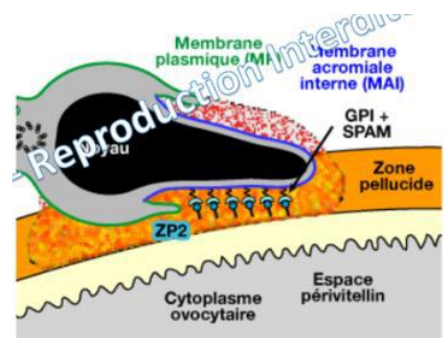


On a une nouvelle interaction qui peut apparaître entre la membrane acrosomique interne et la ZP, on va avoir cette fois-ci une interaction entre ZP2 et un récepteur sur le spz. Chez l'homme ce récepteur, c'est SP17.

Elimination des restes membranaires SP17 mise à nue sur le mb acrosomique interne (MAI) va se lier à ZP2

Cette interaction va permettre de continuer l'entrée dans la ZP avec en plus les mouvements du flagelle qui va pousser au fur et à mesure.

Une fois que le flagelle pousse et que l'acrosome digère la ZP, le spz va se retrouver sous la ZP et on va avoir de spz qui vont venir littéralement se coucher contre l'ovocyte. Là on est sûr des spz qui sont encore relativement nombreux, il n'y en a pas qu'un seul qui rentre puisqu'il y en a plusieurs qui vont être capable de rentrer et d'interagir avec la ZP. Quand on observe, on peut très bien avoir 4/5 jusqu'à peu près une 10zaine de spzs qui vont rentrer sous la ZP.

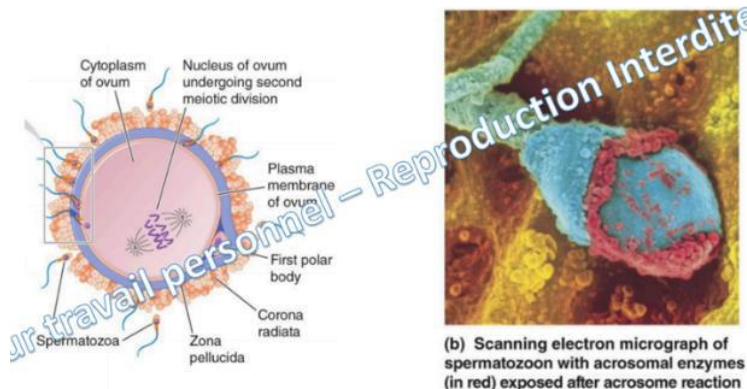


Pénétration oblique par activité protéolytique de l'acrosine sur la MAI (activée depuis la proacrosine) + mouvements de poussée du flagelle → les spz se couchent dans l'espace périvitellin

D'un point de vue microscopique électronique, on va avoir le spz avec (en rouge sur diapo) les restes de l'acrosome, on voit que le spz a perdu une partie de son acrosome pour aller rentrer dans la ZP pour aller se coucher littéralement sous la ZP.

La pénétration est vraiment oblique dans la ZP

Sur ces photographies restructurées à partir de microscopie électronique à balayage en grossissement :



Les spz vont venir contre la membrane ovocytaire se coucher vraiment. Quand le spz va se coucher contre/sur l'ovocyte, on rappelle qu'il y a des microvillosités qui sont comme un tapis à fort grossissement. Le spz va vraiment se poser sur ce tapis et continuer son interaction.

En suite la question c'est de savoir s'ils sont d'accord pour finir leur rencontre ou pas. Même s'il y a 10 spz qui sont arrivés il n'y aura qu'un seul gagnant donc il va falloir se départager et finalement, on ne sait pas comment est choisi le gagnant.

Probablement pas à coups d'épées mais celui qui a le plus de protéines d'interactions membranaires qui va être capable de pénétrer dans l'ovocyte !

III. La fécondation proprement dite

La pénétration dans l'ovocyte c'est le moment où on va parler de fécondation proprement dite.

La fécondation comprend 3 étapes :

- ◇ La fusion des membranes
- ◇ L'activation ovocytaire
- ◇ La fusion des pronoyaux qui va être clé avant de démarrer l'embryogenèse

♥ Fusion des membranes

C'est pareil, c'est extrêmement bien décrit chez la souris et chez l'homme il nous manque quand même quelque étapes...

Globalement, le spz a traversé la ZP donc il n'a plus d'acrosome. **Il a juste sa membrane acrosomique interne qui est exposée.**

On a sous l'acrosome des protéines que l'on appelle **les protéines ADAMs** (A Disintegrin And Metalloprotease) qui sont cette fois-ci non spécifiques d'espèce.

Autant on avait une spécificité de l'espèce entre ZP3 et son récepteur (fixation à la zone pellucide = spécificité d'espèce) **mais pas pour la fusion des membranes, pour les protéines ADAMs on a aucune spécificité d'espèce.**

Ce qui veut dire que si on est capable d'enlever la ZP on peut très bien avoir une fécondation entre un spz d'hamster et un ovocyte de gazelle par exemple... Ça on est capable de le faire in vitro du moment où on a enlevé la ZP. Le résultat après, en termes d'embryon n'ira pas forcément jusqu'au bout mais en tout cas, on est capable de le faire in vitro puisque on a pas du tout de spécificité d'espèce une fois que l'on a enlevé la ZP. (J'espère que vous avez compris...)

Voici un schéma de représentation chez la souris, ce n'est pas la bonne molécule c'est pour ça que c'est indiqué :

Chez l'homme, on a la sous-unité bêta (fertiline bêta) de ses protéines ADAMs qui est présente **mais on n'a pas la sous unité alpha.**

On appelle ces protéines **des fertelines** qui vont interagir/se lier à l'intégrine alpha 6, bêta 1 de la membrane ovocytaire. C'est l'interaction principale entre cette fertiline bêta et cette intégrine alpha 6 bêta 1.

On sait aussi qu'il y a d'autres interactions possibles avec la présence chez l'homme d'une protéine qui s'appelle **Izumo1** (appartient à la superfamille des immunoglobulines) sur la membrane du spz et va interagir avec **un récepteur CD9 et une protéine qui s'appelle Junon qui est présente sur la membrane ovocytaire.** Ça va renforcer l'interaction entre la fertiline bêta et l'intégrine alpha 6 bêta 1 et qui va verrouiller **cette fusion entre le spz et l'ovocyte.**

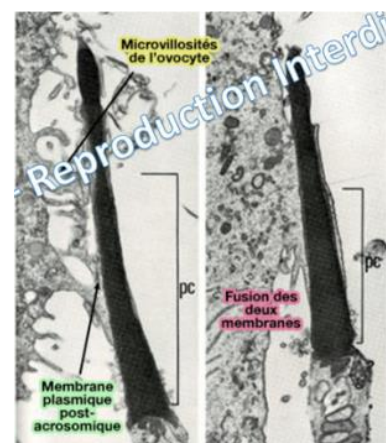
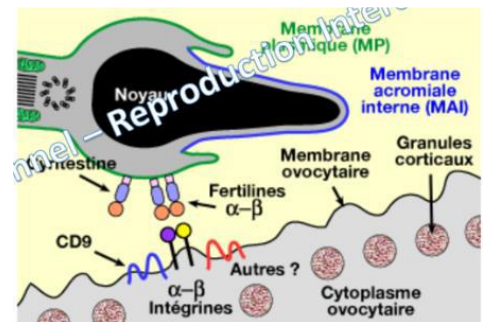
Au niveau microscopique : on a ici une fusion chez la souris (on voit bien que la forme de l'acrosome n'est pas du tout ce que l'on a chez l'homme).

On a le spz qui vient contre les microvillosités ovocytaires (le petit tapis qu'on a vu tout à l'heure), **la membrane acrosomale interne et la membrane plasmique du spermatozoïde.**

On voit que quelque minute plus tard, on a vraiment une fusion entre la mb ovocytaire et la mb acrosomique et plasmique du spz.

Progressivement, on va avoir une entrée du spz dans l'ovocyte. Parfois on considère que c'est quasiment **une phagocytose du spz dans l'ovocyte.** Alors, ce n'est pas une phagocytose, parce que c'est une fusion de membrane. On n'est pas sûr de la digestion du spz, c'est juste qu'on fait disparaître un contenu membranaire et effectivement, globalement c'est comme si l'ovocyte avalait le spz, ou en tout cas, le noyau du spz.

Du moment où on a cette fusion des membranes, va démarrer l'activation ovocytaire



♥ L'Activation ovocytaire

L'activation ovocytaire c'est un des moments cruciaux de la fécondation puisque sans cette activation ovocytaire, on va avoir ce qu'on appelle **une polyspermie** et le risque c'est d'avoir un 2ème ou un 3ème spz qui vont pénétrer dans l'ovocyte. Si on fait rentrer 2/3 spz dans l'ovocyte, on va non plus avoir $n + n$ chromosomes (donc $2n$ chromosomes) mais $3n$ ou $4n$ chromosomes et donc va être dans une situation de triploïdie ou quadriploïdie. On va avoir des malformations qui vont apparaître qui sont non viable.

Le but c'est d'avoir $2n$ chromosomes.

Clé de régulation pour éviter la polyspermie +++

⇒ Cette activation ovocytaire est sous dépendance d'un **signal calcique** qui va durer quelques heures après la pénétration du 1^{er} spz

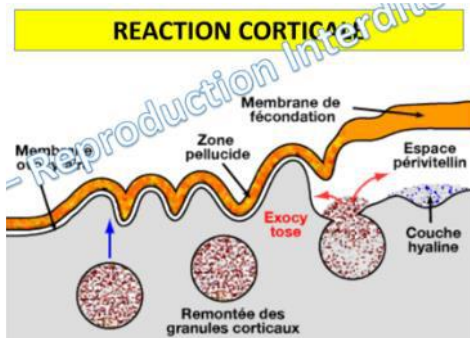
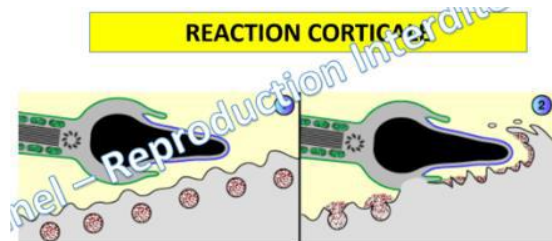
Elle est liée à formation d'IP3 (inosine phosphate 3) par activation de la PLC (phospholipase C)

♥ Réaction corticale

La réaction corticale c'est la 1ère étape de l'activation ovocytaire. **Elle est liée au premier pic calcique qui suit la fusion des membranes.**

On va voir apparaître :

Une fusion des granules corticaux (les structures qui étaient juste sous la mb ovocytaire). Ces granules vont fusionner à la membrane de l'ovocyte et vont relarguer tout leur contenu (GAG) dans l'espace périvitellin juste sous la ZP.



Le contenu c'est de glycosaminoglycanes qui vont être responsable d'un clivage ZP3, ils vont détruire totalement ZP3. Donc, si on a plus de ZP3 les spz ne sont plus capables de s'accrocher à la ZP et de rentrer dans la ZP et en même temps ils vont détruire ZP2 (chaînes oligo- saccharidiques) pour être certains qu'on n'ait pas de spz qui puisse avancer plus loin dans la ZP. On a un verrou sur la ZP : Impossible de franchir la ZP. Tout ça c'est ce que l'on a chez l'homme.

Ce mécanisme va dépendre des espèces (le prof a choisi cette illustration parce qu'elle traîne dans les vieilles ronéo): c'est ce qui se passe chez l'oursin (les doublants connaissent l'amour de Fénelon pour les exemples bizarres...) :

- ♥ Il y a une fusion des granules corticaux à la mb de l'ovocyte qui vont vider leur contenu dans l'espace périvitellin
- ♥ Il y a un espace qui va augmenter de volume avec l'apparition de ce qu'on appelle la mb de fécondation

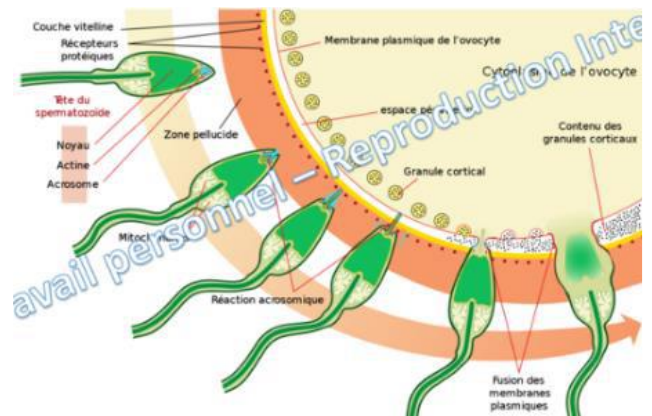
Ça c'est dans certaines espèces : la ZP va changer de structure pour devenir non plus une ZP mais ce que l'on appelle une mb de fécondation (c'est ce que l'on voit par exemple chez le poulet ou l'œuf va féconder et avoir une mb complètement différente). Dans certaines espèces la mb peut changer de

couleur également en plus de l'épaisseur mais surtout, on a un agrandissement de l'espace périvitellin.

Chez l'oursin ce qu'il se passe c'est que les GAGs vont faire un appel d'eau dans cet espace et l'augmenter. Le fait d'avoir de l'eau ici ça va empêcher la pénétration des spz et ça va les détruire spontanément.

Cette image n'est pas liée à la fécondation humaine (attention) c'est vraiment dans une espèce. Faites attention quand vous voyez des images, essayez de trouver l'espèce parce qu'en fonction de l'espèce tous les mécanismes vont être extrêmement différents.

Si on regarde en dynamique ce qu'il se passe depuis la pénétration de la ZP : on a le spz qui s'approche dans les enveloppes de la ZP qui va rentrer au contact de la ZP et qui va libérer son contenu acrosomique qui va digérer progressivement la ZP. **Quoi qu'il arrive, on va avoir la libération des granules corticaux.**



♥ Réaction nucléaire

La réaction nucléaire **c'est la 2ème étape de l'activation ovocytaire**. Cette réaction c'est uniquement ce qu'on avait vu au moment de la folliculogénèse = c'est une reprise de la méiose.

Au moment où le spz pénètre dans l'ovocyte on va avoir une reprise de la méiose :

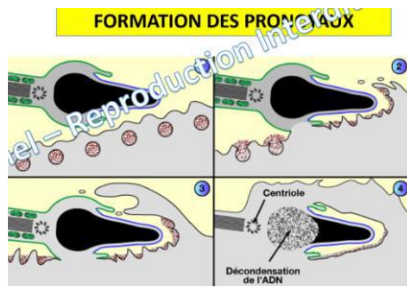
Lever du blocage de la métaphase II : elle va pouvoir continuer et on va avoir l'anaphase, la séparation des lots de chromatides avec l'expulsion du 2ème globule polaire. On le sait, en fécondation in vitro quand on voit apparaître le 2ème GP ça veut dire que forcément, on a un spz qui est rentré dans l'ovocyte puisque on ne peut pas avoir le 2ème GP sans fécondation dans le sexe féminin.

Tout de suite va apparaître le pronoyau femelle, on ne va pas voir de chromosomes dispersés dans l'ovocyte, on a tout de suite la constitution d'un pronoyau femelle avec l'apparition d'une mb autour de ce pronoyau femelle.



♥ Formation des pronoyaux

La formation des pronoyaux (PN), parfois appelée la réaction cytoplasmique, **c'est la 3ème étape de l'activation ovocytaire**.



PN Femelle = directement après la reprise de la méiose II

PN Mâle = dans l'ovocyte, ne vont pénétrer seuls que le noyau et le centriole proximal

Le flagelle va être détruit au moment de la fusion membranaire, une partie va rester à l'extérieur de l'ovocyte et donc l'enveloppe nucléaire du spz va se détruire et progressivement disparaître.

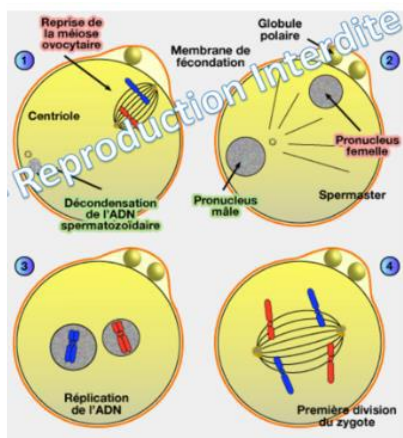
Si on a plus d'enveloppe nucléaire on va avoir une mise en contact/interaction directe de la chromatine avec le cytoplasme ovocytaire → **qui va conduire au remplacement des protamines qui permettaient de condenser le noyau spermatique par des histones ovocytaires qui sont apportées par l'ovocyte** (ce ne sont pas des histones qui sont venues avec le spz dans l'ovocyte)

La chromatine va se décompacter chargée en histones, **et très rapidement on va avoir une membrane nucléaire qui va apparaître autour de cette chromatine mâle (autour du PN Mâle) par bourgeonnement du RE et donc de l'ovocyte.**

On retrouve dans l'ovocyte : un PN femelle et un PN mâle avec chacun 23 chromosomes

Il ne reste plus qu'une étape, c'est les faire fusionner !

♥ Fusion des pronoyaux



En termes de fusion, si on regarde au microscope, on est capable de distinguer les pronoyaux mâles et femelles non pas par leur positionnement de l'ovocyte parce qu'en fonction des espèces, le positionnement va être différent, mais surtout par rapport à leurs tailles : **PN Mâle > PN Femelle**

Globalement, la décompaction de la chromatine du spz va entraîner une réaction plus ou moins apparentée à de **l'inflammation et le pronoyau mâle est un peu plus gros que le pronoyau femelle donc on est capable de les distinguer au microscope.**

La rencontre des 2 pronoyaux est possible/permise grâce au réseau de microtubules et de microfilaments qui est présent dans l'ovocyte.

Le 1er fuseau de division est constitué à partir du centriole proximal du spz. On rappelle que le spz est entré avec son noyau et son centriole proximal. Ce centriole proximal qui traînait depuis belles lurettes et qui ne servait pas à grand-chose va permettre dans l'ovocyte de constituer un autre fuseau de division mitotique

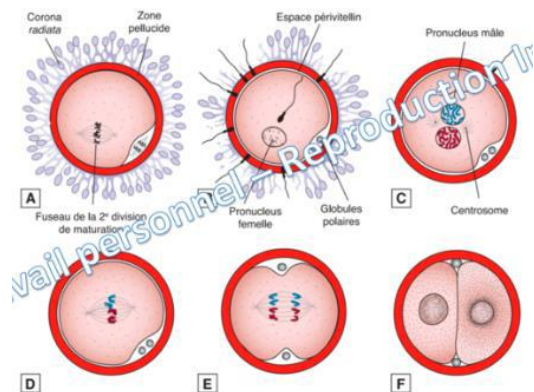
Tout autour de ce fuseau vont se disposer des mitochondries. Les mitochondries qui sont celles de l'ovocytes vont permettre d'apporter l'énergie nécessaire à une étape essentielle qui est la réplication de l'ADN.

On rappelle qu'on a 23 chromosomes dans chaque pronoyau mais que ces 23 chromosomes n'ont chacun qu'un chromatide et donc du coup, on n'a pas suffisamment de matériel pour pouvoir passer sur une division cellulaire classique donc une mitose. Il va falloir augmenter le contenu en ADN pour pouvoir démarrer une mitose. On va avoir phase S de réplication de l'ADN. Cette phase S commence au moment (après) de la disparition de la membrane nucléaire.

Lorsque les pronoyaux vont s'approcher on va avoir une disparition de la membrane et un début de réplication et dès lors ou cette réplication est achevée, on va avoir la 1ère division qui est tout simplement une mitose. Cette mitose va donner non plus un spz et un ovocyte mais 2 blastomères qui vont continuer au fur et à mesure (cf. embryologie)

D'un point de vue schématique, on va avoir ces jolies choses avec :

- A) l'ovocyte
- B) le PN féminin et le spz qui est entré avec son flagelle (ce qui n'est pas tout à fait vrai)
- C) les 2 PN qui s'approchent
- D) le fuseau de division
- E) la 1ère division embryonnaire
- F) les 2 premiers blastomères qui apparaissent



On est capable de faire ça in vitro, néanmoins, pour arriver à faire ça, il faut arriver à attraper un spz. Ici on a un ovocyte, un spz et c'est magique, on a l'impression qu'on a fait rentrer le spz comme ça d'un seul coup.

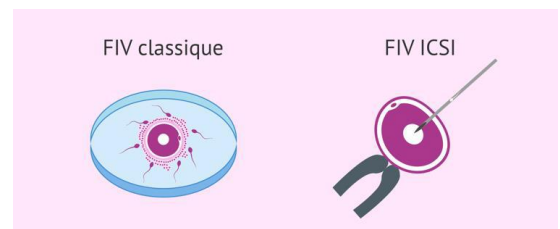
Alors en fait, il faut :

- ♥ Attraper les spz : on a une petite cabine expresse pour masturbation, on les met dans un petit pot pour récupérer
- ♥ Capaciter les spz : il faut enlever le liquide séminal, ça on arrive à le faire
- ♥ Arriver à des spz qui vont être dans un milieu de culture donc qui continuent à bouger

Ici on voit la tête du spz et son flagelle, et en fait :

Soit on met ces spz contre l'ovocyte dans une boîte de culture et on laisse faire : **c'est la fécondation in vitro (FIV)**

Soit on peut aller plus loin notamment quand on n'a pas assez de spz, on peut effectivement déposer le spz directement dans l'ovocyte donc faire traverser la ZP et faire rentrer en contact directement : **C'est l'injection intracytoplasmique de spz (ICSI)**



On prend une pipette, on fait rentrer un seul spz dans la pipette, c'est le même principe que la polyspermie, on n'en veut pas 2 ou 3 à l'intérieur de l'ovocyte, on en veut qu'1 seul. Après, par une

technique de fusion/aspiration, on a une pipette qui va exercer une attraction sur l'ovocyte qui va le stabiliser de tel sorte à ce qu'il ne bouge pas.

Ici on voit un ovocyte qui a été récupéré par ponction chez une dame. Autour on a la ZP parce qu'on l'a laissé. On va rentrer directement à travers la ZP. On va perforer la ZP et rentrer directement dans le cytoplasme de l'ovocyte pour déposer le spz avec son flagelle à l'intérieur de l'ovocyte.

On positionne l'ovocyte dans une position bien particulière, **on ne met pas le GP n'importe où. Si on met le GP à cet endroit c'est tout simplement parce que le matériel chromosomique de l'ovocyte est juste contre le GP après l'ovulation.** Le but du jeu c'est quand on perfore l'ovocyte c'est de ne pas abimer le matériel chromosomique ovocytaire et donc d'être loin de l'appareil chromosomique.

Effectivement, après on va avoir entrainer une FIV qui va donner cette image, avec ces 2 pronoyaux et le 2^{ème} GP qui va apparaitre.



IV. La suite ... vous la connaissez parce que vous l'avez vue en embryologie

Effectivement, on va avoir les divisions cellulaires qui vont continuer jusqu'au trajet inverse cette fois-ci qui va aller jusque dans la cavité utérine pour aller se nider sur la partie haute de l'utérus et pas sur le côté habituellement.

9 mois plus tard, si tout se passe bien, on aura un joli bébé qui arrivera à la maison

(Et si vous voulez connaître la suite parce que c'est trop cool et trop intéressant venez en SF ☺)

