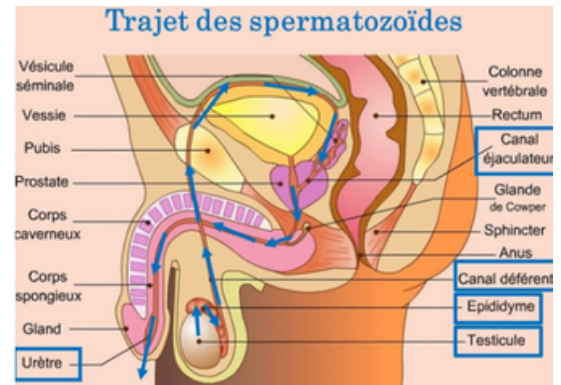


Les étapes clés de la fécondation



I) L'éjaculation

Le spermatozoïde a pris naissance dans les **tubes séminifères**. Il rejoint ensuite le **rete testis** pour finir dans la tête de l'**épididyme**. Il y subit pendant une quinzaine de jours sa maturation, où il acquiert sa mobilité indispensable. Il est ensuite stocké dans l'épididyme, juste à l'entrée du **canal déférent** (qui est facilement accessible à l'examen clinique), puis va rejoindre les **canaux éjaculateurs** (qui s'abouchent dans le canal urétral au niveau de la prostate, juste sous la vessie).



Tubes séminifères > Rete Testis > Tête de l'épididyme > Traversée de l'épididyme > Canal déférent > Canaux éjaculateurs > Urètre prostatique

Les spz ne sont pas stockés indéfiniment dans le canal déférent, ceux non utilisés seront détruits par apoptose.++

2 **mécanismes** sont mis en jeu pendant la fécondation :

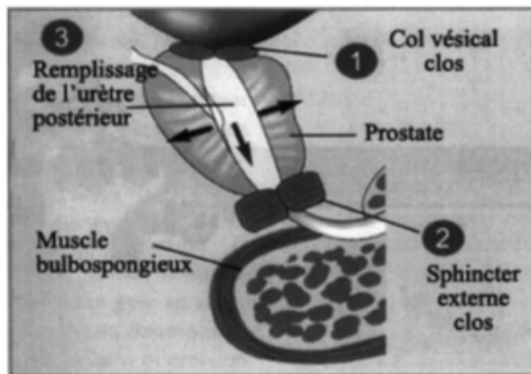
- **Etape 1 : émission**

- Fermeture du col vésical, ce qui va empêcher l'urine de rentrer dans le canal urétral.
- Fermeture complète du **sphincter interne** de la vessie.
- Remplissage progressif de **liquide séminal** (qui vient en grande majorité d'une production prostatique) et de spz au niveau de l'urètre postérieur, pendant le rapport. A savoir que l'urètre est inséré sur le muscle bulbo-spongieux et entre les corps caverneux.
- Fermeture du **sphincter externe** de la vessie (par sécurité, afin d'éviter toute émission spermatique avant la fin du rapport). La prostate devient alors un espace de stockage.

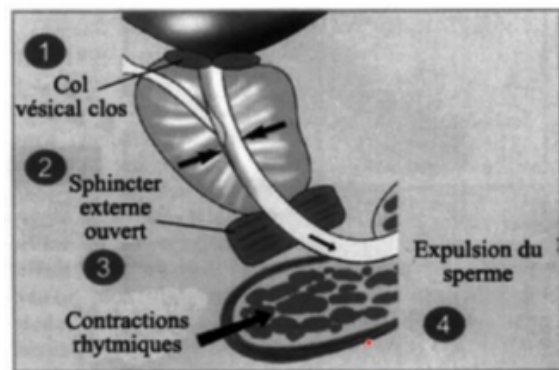
- **Etape 2 : expulsion (=éjaculation)**

→ Ouverture rapide du sphincter externe, accompagné de contractions de la prostate et de contractions rythmiques du muscle bulbo-spongieux. Le sphincter externe étant ouvert, on obtient une expulsion saccadée du sperme.

Attention, le sphincter vésical interne reste totalement fermé afin d'éviter d'uriner en même temps que l'éjaculation. +++



PHASE D'EMISSION



PHASE D'EXPULSION

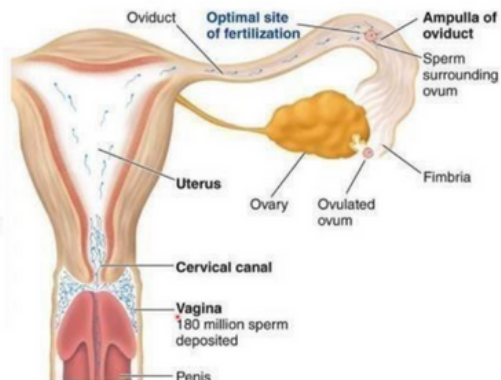
II) Le trajet spermatique

La **séménogéline** (SG) est une protéine qui permet la **coagulation** quasi immédiate de l'éjaculat (spz + liquide spermatique). L'éjaculat est déposé au fond du vagin, au niveau des culs de sacs vaginaux, et on aura donc à ce niveau un coagulum qui va entourer le col vaginal (ceci permettant d'éviter les pertes).

L'éjaculat va progressivement se liquéfier, principalement grâce à la dégradation de cette SG. Cette dégradation est liée à la sécrétion concomitante de PSA (= Ag prostatique spécifique), qui est sécrétée par la prostate. Elle est achevée en **20-30 minutes**.

Ejaculat

- 2 à 6 ml
- 20 à 200 millions de spz / ml
- coagulation quasi immédiate sous l'effet de la **séménogéline**
- liquéfaction par dégradation SG par le PSA en 20-30 minutes
- dépôt dans les culs de sacs vaginaux avec relargage par vagues successives



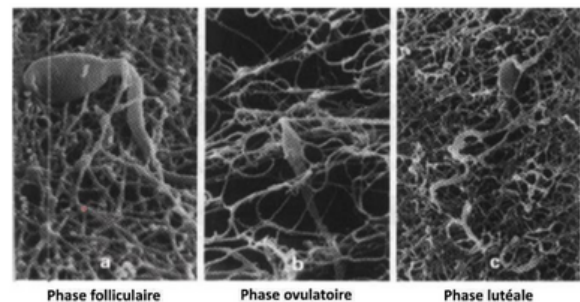
Le **pH alcalin du liquide séminal** va permettre la survie des spz. En effet, il tamponne le **pH acide du vagin** qui empêche la prolifération de bactéries (comme les mycoses). On obtient ainsi un pH neutre favorable à la survie des spz.

Si on considère que 100% des spz sont déposés au fond du vagin, seulement **3%** d'entre eux atteindront le canal cervical. En effet, une grande partie du liquide séminal est perdu lors des rapports et lors de la liquéfaction, par **gravité**. De plus, le canal cervical correspond à une véritable « pont-levis », bloquant l'entrée de la cavité utérine.

Au niveau de ce canal, nous retrouvons l'endocol et l'exocol. La muqueuse externe, l'exocol a un **épithélium similaire à celui du vagin++**. L'endocol a un épithélium glandulaire particulier dans lequel sont logés des glandes, sécrétant une solution muqueuse : la **glaire cervicale**. Il existe une zone de faiblesse à la jonction endocol-exocol, qui est une zone préférentielle d'apparition des cancers du col de l'utérus. Les frottis cervico-utérins permettent de récupérer les 2 types de cellules pour détecter une potentielle tumeur. *(cette partie c'est de la répétition du cours AGF donc c'est ++ à comprendre)*

La glaire cervicale est un maillage qui tapisse le col utérin. Ce maillage est **mobile** au cours du cycle menstruel :

- En phase ovulatoire, les mailles sont relâchées pour laisser passer les spz, la maille est ouverte et filante
- En phases lutéale et folliculaire, il est extrêmement resserré



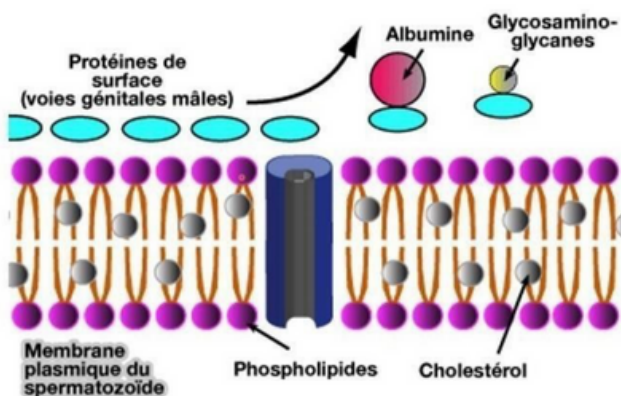
En phase lutéale, l'aspect resserré de la glaire est dépendant de la **sécrétion de PG** par le corps jaune. C'est un argument en faveur de l'efficacité des progestatifs comme contraceptifs, puisqu'ils rendent la glaire cervicale impropre au passage des spz.. Ils sont aujourd'hui associés à d'autres molécules pour leur action anti-gonadotrope.

Le trajet des spz ne s'arrête pas à la traversée de la glaire cervicale, il arrive ensuite dans l'utérus.

*Rappel : Lors de la maturation épидидymaire, le spz subit des changements majeurs de répartition au niveau de sa membrane, avec des efflux de certaines molécules. C'est la **décapacitation**, ou perte du pouvoir fécondant.*

Dans le tractus génital féminin, après le canal cervical, ce pouvoir fécondant sera restauré : c'est la **capacitation**. Elle dure 6-8h. Attention, le prérequis est l'absence de liquide séminal sinon il n'y a pas de capacitation. ++

Pour se faire, on enlève les protéines de membrane qui ont été déposées dans l'épididyme. Elles se lient à l'**albumine** ou à des **GAG**, laissant la membrane plasmique exposée, sans protection (déshabillage de protéines plasmiques). L'efflux de cholestérol restaure la fluidité membranaire, permettant un influx de **Ca²⁺**. Les sites d'interaction avec l'ovocyte II sont exposés, sans lesquels on ne pourrait pas avoir de fécondation.

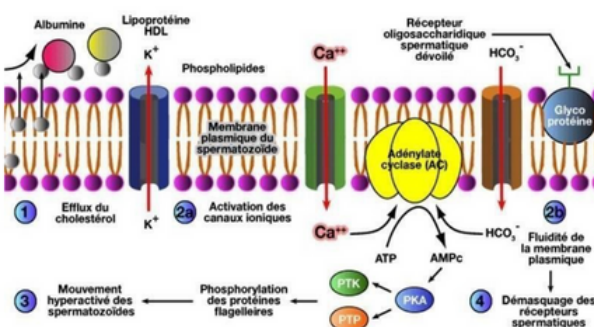


1. L'efflux de cholestérol permet l'activation des canaux ioniques, notamment un influx de **Ca²⁺**.

2. Le **Ca²⁺** active l'adénylate cyclase (AC) qui permet la synthèse d'AMPc à partir d'ATP

3. AMPc active la PKA -> les protéines du flagelle sont phosphorylées ce qui permet le mouvement hyperactivé.

Pour tamponner l'électropositivité du Ca²⁺, on a aussi un influx de **HCO₃⁻**, associée avec une restauration de la fluidité membranaire. Cette fluidité permet de démasquer des récepteurs oligosaccharidiques spécifiques aux gamètes femelles, qui vont interagir avec la zone pellucide.



Pas d'inquiétude, selon le Professeur apprendre les molécules du schéma en détail n'est pas le plus important, c'est surtout important de comprendre le processus dans sa globalité !

La capacitation

- **Objectif** = restauration du pouvoir fécondant du spermatozoïde
- **Durée**: **variable** selon les espèces +++
 - 30 minutes chez la souris
 - 6 à 7 heures dans l'espèce humaine
- **Prérequis**: *absence de liquide séminal*
- **Principes**:
 - *enlèvement des protéines de membranes*
 - *efflux de cholestérol* → restauration de la fluidité membranaire → influx de Ca²⁺
 - *exposition des sites d'interaction* avec le gamète femelle

Le spz capacité se retrouve dans la cavité utérine. A travers le canal cervical, on perd de nouveau un nombre énorme de spz : **0,1% seulement** arriveront dans la cavité utérine. Le mouvement propre du spz (hyperactivé) va lui permettre d'arriver jusqu'au site de fécondation (**ampoule tubaire**). Les **prostaglandines** contenues dans le liquide spermatique vont posséder des récepteurs au niveau du col utérin et induire des contractions du myomètre. A terme, **seulement 0,001%** des spz vont atteindre l'ampoule tubaire.

→ De la même façon que les follicules subissent une atrophie généralisée à 99%, les spz sont **majoritairement détruits** avant d'arriver au site de fécondation.

NB : Lors de l'accouchement, si une femme ne rentre pas spontanément en travail, on peut utiliser des prostaglandines pharmacologiques afin d'induire les contractions du myomètre et déclencher l'accouchement

Le spz arrivé au niveau de l'ampoule tubaire rencontre le **cumulus oophorus** qui est une masse de cellules de la granulosa qui entoure l'ovocyte 2 ovulé. Sa ZP le protège des attaques extérieures.

Le mouvement hyperactivé du flagelle lui permet de passer à travers les cellules du cumulus oophorus. A l'intérieur du TGF, les sécrétions de hyaluronidases lysent l'acide hyaluronique qui lie toutes les cellules du cumulus. Plus le cumulus avance dans le TGF, plus il rencontre de hyaluronidases et moins il y aura de cellules autour de ce cumulus. En fonction du site de rencontre, le spz aura donc plus ou moins d'effort à fournir pour traverser les enveloppes.

La réaction acrosomique

- **Prérequis**: *le spermatozoïde doit être capacité +++*
- Début dès lors que le spermatozoïde entre en contact avec ZP3

Modalités de reconnaissance parfaitement détaillées chez la souris, encore incomplètement dans l'espèce humaine

- **Principes (souris)**:
 - *interaction bêta 1,4-galactosyltransférase de la membrane du spz*
 - *avec chaînes oligosaccharidiques de type O-lié à ZP3*

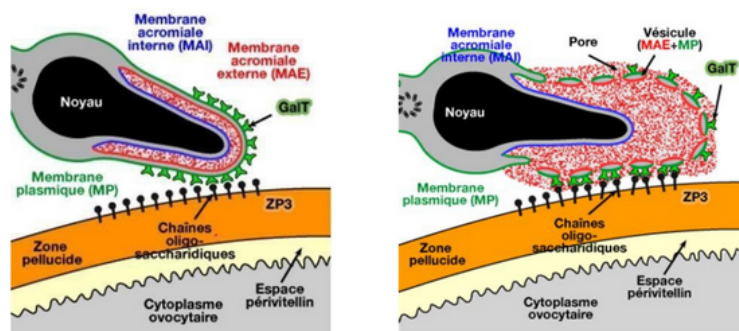
La réaction acrosomique a lieu au contact de l'ovocyte, elle n'est possible que si le spz est capacité. +++ Ce phénomène débute dès que le spz arrive au contact de ZP3.

ATTENTION on utilise les données chez le rongeur, les mécanismes moléculaires chez l'Homme ne sont que partiellement connus en ce qui concerne la reconnaissance spermatozoïde-ZP3

Chez la souris, on trouve donc une interaction au niveau de la membrane du spz entre la β 1,4 galactosyltransférase (GalT) et les chaînes oligosaccharides de type O liées à ZP3.

Chez l'Homme, il y a probablement intervention d'une α -D-mannosidase et d'autres protéines comme SP95. L'interaction récepteur de membrane GalT/chaînes oligosaccharides entraîne une fusion ponctuelle entre la membrane plasmique du spz et la MAE (membrane acrosomiale externe). Cette fusion est liée à la fixation de ZP3 au Rc de membrane. Elle entraîne une entrée massive de Ca^{2+} dans le spz ce qui active la **phospholipase C** (PLC) et la **phosphokinase C** (PKC). La membrane est déstabilisée, se fissure pour mener in fine à une **libération du contenu de l'acrosome**.

On trouve donc une interaction au niveau de la membrane du spz entre la β 1,4 galactosyltransférase (GalT) et les chaînes oligosaccharides de type O liées à ZP3 chez la souris. Chez l'Homme, il y a probablement intervention d'une α -D-mannosidase et d'autres protéines comme SP95. L'interaction récepteur de membrane GalT/chaînes oligosaccharides entraîne une fusion ponctuelle entre la membrane plasmique du spz et la MAE (membrane acrosomiale externe). Cette fusion est liée à la fixation de ZP3 au Rc de membrane. Elle entraîne une entrée massive de Ca^{2+} dans le spz ce qui active la **phospholipase C** (PLC) et la **phosphokinase C** (PKC). La membrane est déstabilisée, se fissure pour mener in fine à une libération du contenu de l'acrosome.



Les membranes fusionnent de manière ponctuelle, créant des orifices aux points de fusion, par lesquels le contenu acrosomial se déverse dans l'espace autour du spz.

La zone pellucide va être altérée et se disloque, les restes membranaires sont détruits et éliminés. SP17 présent sur la MAI (membrane acrosomiale interne) est mis à nu et interagit avec ZP2. Cette interaction facilite la pénétration du spz dans la zone pellucide, qui progresse grâce aux mouvements de son flagelle.

Le spz se couche sur les villosités de l'ovocyte et atteint enfin la membrane de ce dernier. La pénétration du spz de la ZP est **oblique** et non pas perpendiculaire. Le spz se couche dans l'espace péri-vitellin avant de la traverser. ++

Après la fusion, l'**acrosine** contenue dans l'acrosome va détruire les protéines et créer un trou dans la ZP pour permettre au spz de rentrer. Cette entrée est facilitée par les pulsions du flagelle. Le spz atteint enfin l'espace péri-vitellin par pénétration oblique+++

La fécondation proprement dite se déroule en **3 étapes** : ++

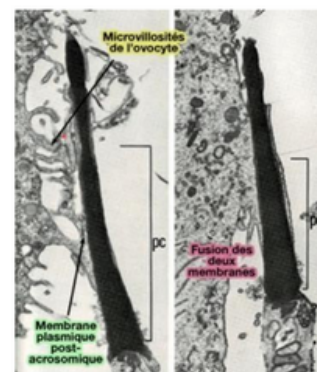
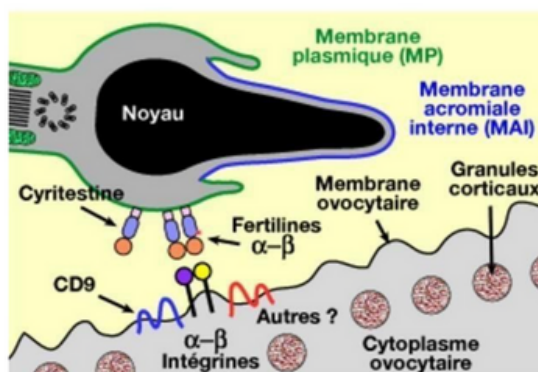
- **Fusion** des membranes
- **Activation** ovocytaire
- **Fusion** des pronoyaux

1) La fusion des membranes

La fixation à la ZP est une fixation qui est spécifique d'espèce ++ (*un spz humain ne peut pas se fixer à un ovocyte de souris et vice versa*). **ZP3** est spécifique de fusion de la souris.

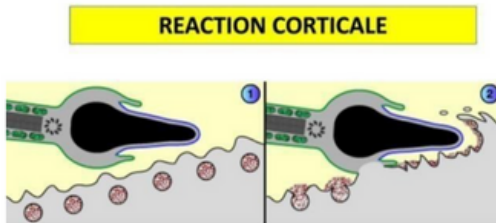
Cependant la fusion des membranes est aspécifique d'espèce. ++ Une fois que la ZP a été franchie, toutes les fusions de gamètes sont possibles entre espèces (notion de « chimère »).

Chez l'Homme, la fusion membranaire fait appel à des protéines **ADAMs** (métalloprotéases), principalement la **sous-unité β** (= fertiline β). Elle est portée par la membrane plasmique post-acrosomique du spz, donc en arrière de l'acrosome. Elle interagit avec l'**intégrine $\alpha 6 - \beta 1$** de la membrane ovocytaire. Une fois unies, il y a une interaction avec 2 autres protéines : **Izumo 1** (Ig) et **CD9 + Junon** de la membrane ovocytaire.



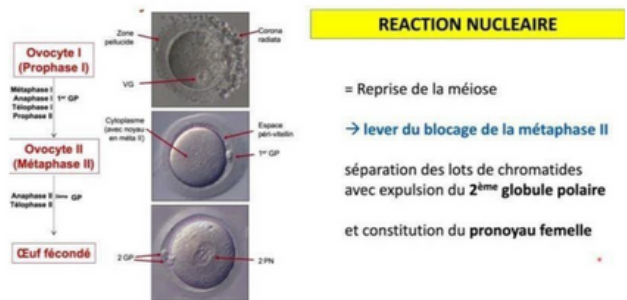
2) L'activation ovocytaire

L'activation ovocytaire est la **clé de régulation** qui empêche la polyspermie (pénétration de plusieurs spz). Elle fait immédiatement suite à la fusion des membranes, les autres spz restent bloqués dans l'espace péri-vitellin. Cette régulation est sous la dépendance principale d'un **signal calcique**, jusqu'à la première division embryonnaire. Elle est liée à la formation d'IP3 par activation de la PLC.)



Initialement, un **1^e pic calcique** est déclenché. Les **granules corticaux** fusionnent avec la membrane ovocytaire et relarguent par exocytose leur contenu, riche en **GAG**, dans l'espace péri-vitellin. Ce relargage de GAG clive la ZP3 et les chaînes oligosaccharides de ZP2, il est donc impossible de franchir la ZP car il n'y a plus de protéine de reconnaissance

Ensuite, la **réaction nucléaire** correspond à la fin de la 2^{de} division de méiose. L'anaphase et la télophase 2, très courtes, permettent la séparation des lots de chromatine, qui aboutit à l'expulsion d'un 2^e GP dans l'espace péri-vitellin, et la constitution du pronoyau femelle. Ce 2^e GP est le témoin de la fécondation++.



REACTION NUCLEAIRE
= Reprise de la méiose
→ lever du blocage de la métaphase II
séparation des lots de chromatides avec expulsion du 2^{ème} globule polaire et constitution du pronoyau femelle

PN Femelle = suite à la fin de méiose II

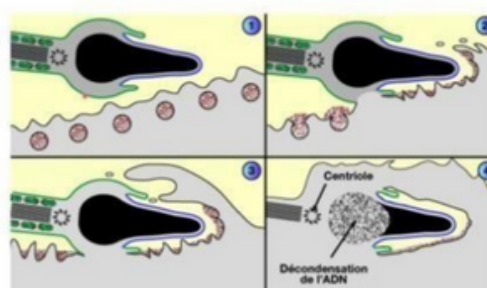
PN Mâle → seuls le noyau et le centriole proximal pénètrent dans l'ovocyte

Enveloppe nucléaire disparaît

Interaction chromatine avec cytoplasme ovocytaire → remplacement des protamines par des histones ovocytaires

Membrane nucléaire autour du PN par bourgeonnement du RE

FORMATION DES PRONOYAUX



Enfin, il y a la **formation du pronoyau (PN) mâle**. Seuls le centriole proximal et le noyau pénètrent dans l'ovocyte. ++ Ensuite, l'enveloppe nucléaire disparaît. L'interaction directe entre la chromatine spermatique et le cytoplasme ovocytaire amène au **remplacement des protamines par des histones ovocytaires**. L'ADN passe d'un état condensé à décondensé. Afin de le protéger, une membrane nucléaire se forme tout autour du PN masculin décondensé par bourgeonnement du RE, tout comme pour le PN femelle.

3) La fusion des pronoyaux

La dernière étape correspond à la **fusion des 2 PN** néoformés. En termes de taille le PN mâle est plus grand que le PN femelle.+ Leur rencontre est permise grâce au réseau de microtubules (MT) et de microfilaments (MF) à l'intérieur de l'ovocyte.

Le **1e fuseau de division post-fécondation** est constitué à partir du **centriole proximal** du spz qui agence MT et MF de telle sorte que les PN puissent se rencontrer. Les PN se rapprochent, et tractés par le fuseau, l'ADN des PN va se répliquer (c'est donc une phase S de réplication de l'ADN). La réplication achevée (2n ADN), les membranes nucléaires disparaissent, les chromosomes s'alignent de manière homologue autour de la plaque équatoriale afin de définir les deux lots de 46K. Ainsi seront formés les 2 premiers **blastomères**.

Aujourd'hui, on est capable de reproduire ces phénomènes en laboratoire. Ici, on a un exemple de fécondation in vitro (FIV) :

→ **Simple** : on place un ovocyte autour de spz mais la fusion se fera « **naturellement** » (comme vu ci-dessus)

→ **Insémination intra-cytoplasmique** de spz (ICSI) : on injecte le spz au sein du cytoplasme de l'ovocyte grâce à une canule, s'utilise quand la qualité du spermatozoïde est moindre



Dans tous les cas, il faut absolument que le spz soit **capacité** auparavant.

FINNN

Bravo d'être arrivé à la fin de ce cours ! Ce n'est pas un cours simple alors on n'hésite pas à le revoir plusieurs fois, à s'entraîner avec pleins de QCM et à poser ses questions sur le forum ! Je vous envoie plein de courage <3

Dédi à Iris, votre superbe tutrice de SP/SN, qui adorait ce cours en P1

Dédi à Iris (biophy cette fois-ci) et Charlotte <3

Dédi à mon petit groupe de SF préféré sans qui le début d'année n'aurait pas été aussi fun

Dédi à tous les tuteurs, vous me manquez trop