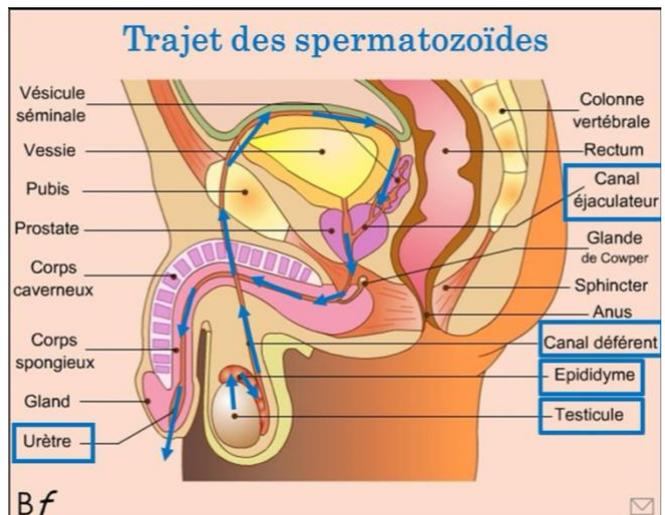


# Les étapes clés de la fécondation

## 1) Le trajet spermatique

*rappel* : Le spz 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, *cad qu'on peut facilement le palper*), puis va rejoindre les **canaux éjaculateurs** au niveau de la prostate, juste sous la vessie.



Le sperme (*ici il parle du liquide séminal, pas des spz*) est produit en particulier par les vésicules séminales et la prostate.

## 2 mécanismes mis en jeu :

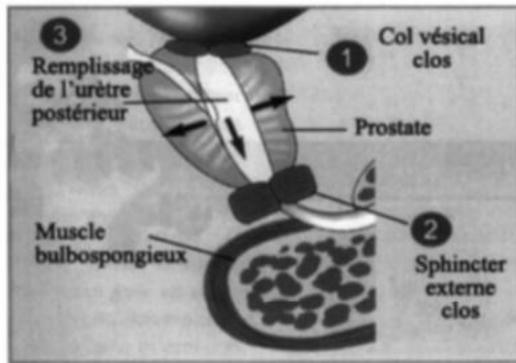
### ÉTAPE 1 : émission

- ☆ Fermeture du col vésical (empêche 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
- ☆ Fermeture du **sphincter externe** de la vessie afin de faire remonter les spz devant la lumière prostatique en contractant les canaux déférents (par sécurité, afin d'éviter toute émission spermatique avant la fin du rapport). La prostate devient alors un espace de stockage.

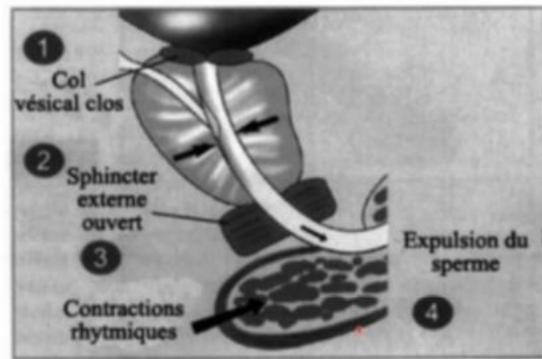
### ÉTAPE 2 : expulsion (= éjaculation)

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

/!\ : le **sphincter interne** reste totalement fermé pour ne pas uriner en même temps



**PHASE D'EMISSION**



**PHASE D'EXPULSION**

⇒ Lors de cette fermeture du col vésical et du **sphincter interne**, il y aura une contraction qui dure sur le col vésical ce qui explique pourquoi il est difficile d'uriner juste après l'éjaculation.

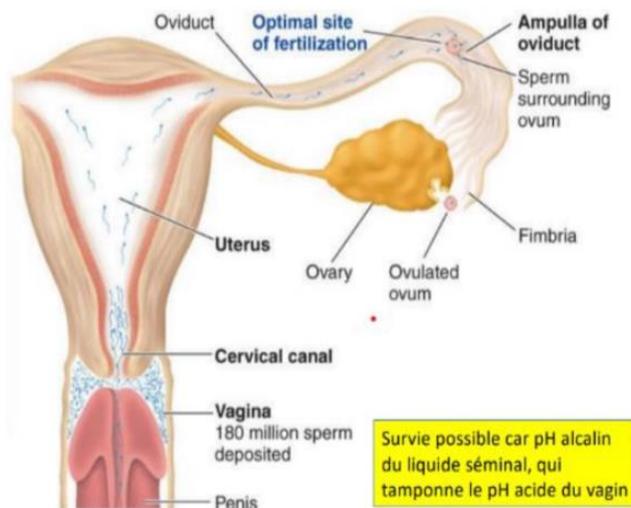
**Pathologie** : Il existe des anomalies des sphincters (notamment neurologiques, diabète), où le sphincter ne peut pas se fermer et reste ouvert. Ainsi, lorsque le patient a un rapport ou se masturbe, le liquide séminal et les spz vont se concentrer et remonter dans la vessie. Puis, au moment de l'éjaculation, le patient s'urine dessus. Ce sont en général les vaisseaux médullaires qui posent problème et le patient risque de perdre ses spz. Il aura alors recours à un prélèvement spermatique : soit pour aller chercher les spz directement dans l'épididyme, soit pour centrifuger les urines du matin et récupérer les spz vivants afin de les utiliser lors de la fécondation.

Pendant un rapport sexuel, l'éjaculation se fait normalement au **fond du vagin**, au niveau du **cul de sac postérieur**. Ce cul de sac est la plus grande partie du vagin capable de garder le volume spermatique. Puis, il y a une **coagulation** presque immédiate du sperme grâce à la **séménogéline (SG)** qui donne cet aspect gluant. Ce coagulat sert à éviter que le sperme tombe de la cavité vaginale.

Le volume spermatique est de **2 à 6 ml maximum**, au-delà c'est un signe de pathologie : une **prostatite chronique** ou une autre **IST** qui enflamme les vésicules séminales.

En termes de nombre de cellule, il y a **20 à 200 millions de spz par ml**. Cela peut varier d'un éjaculat à l'autre, puisque si le patient a plusieurs rapports dans une même nuit, le dernier éjaculat ne sera pas celui qui aura le plus de spz. Ce nombre dépend également de la production de spz actuel. Par exemple, s'il y a eu un épisode fébrile il y a 3 mois, l'éjaculat aura moins de spz.

!/\\ donc le volume de sperme ne correspond pas au nombre de spz mais bien à la **sécrétion séminale prostatique**



Et enfin au bout d'une quinzaine/vingtaine de minutes, l'éjaculat va progressivement se liquéfier, principalement grâce à la dégradation de cette **SG**. Cette dégradation est liée à la sécrétion concomitante de **PSA (= antigène prostatique spécifique)** qui est sécrétée par la prostate.

NB : c'est une enzyme prostatique dosée chez le garçon lors de recherche de cancer de la prostate.

Progressivement grâce à ce phénomène, les spz pénètrent dans le canal cervical pour remonter le tractus utérin. Ce trajet est possible grâce au **pH alcalin du sperme** qui tamponne le **pH vaginal acide** aux alentours de 5-5,5 (*il est physiologique, c'est pour empêcher la prolifération des bactéries comme les mycoses*). On obtient alors une pH neutre favorable à la survie des spz.

Cependant une grande partie des spz est perdue car lors de la pénétration dans le canal cervical, seul **3% d'entre eux survivent**. En effet, une grande partie du liquide séminal est perdue 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, on retrouve l'**endocol** et l'**exocol** (*rappel de agf normalement*). La **muqueuse externe (= exocol)** correspond à un épithélium similaire à celui du vagin. Alors que l'**endocol** a un épithélium glandulaire particulier dans lequel sont logés des glandes, sécrétant une solution muqueuse : la **glair cervicale**.

NB : 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.

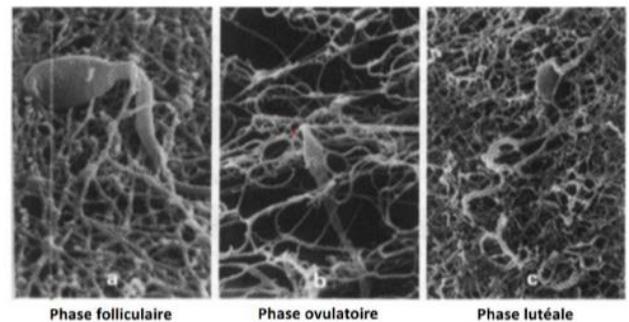
**Zoom sur la glaire cervicale :** C'est un maillage qui tapisse le col utérin. Ce maillage est mobile au cours du cycle menstruel :

- en phase ovulatoire : mailles relâchée, ouverte et filante pour laisser passer les spz
- en phase folliculaire : extrêmement resserrée
- en phase lutéale : aspect resserré qui dépend de la sécrétion de progestérone 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.

Cervical canal	1-3	3
Vagina	0	100

\*Based on data from animals. Sperm and ovum enlarged.



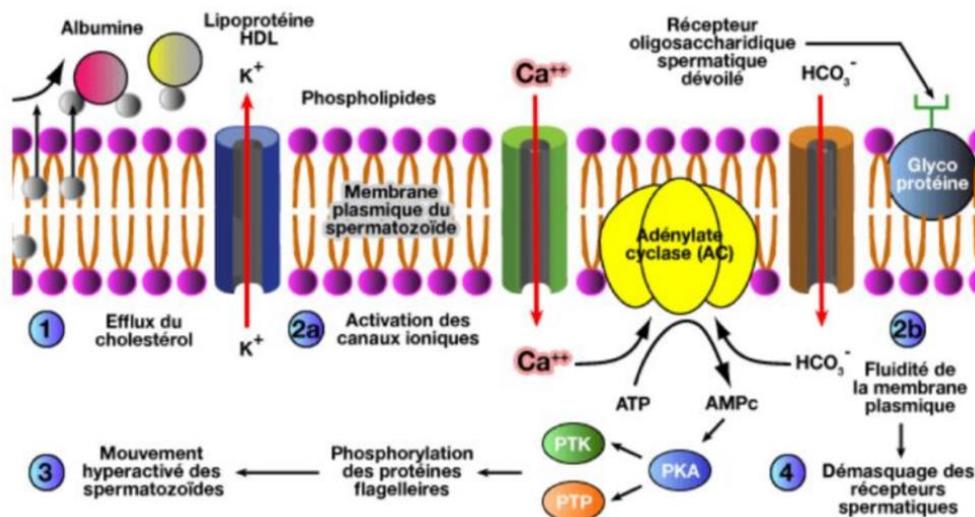
Ainsi, la glaire cervicale constitue un moyen de régulation des naissances, certaines femmes sont capables de chercher la glaire et de l'observer pour savoir si elles sont en période ovulatoire ou pas. D'après la **filance de la glaire**, elles savent si cette dernière peut laisser passer les spz.

Cette méthode est aussi utilisée en **AMP** (*aide médicale à la procréation*), puisque parfois la patiente a juste des troubles de réceptivité de la glaire. Il suffit donc de court-circuiter la glaire en amenant des spz par un cathéter de canal cervical. En les déposant de l'autre côté de la glaire, ils continuent leur trajet et peuvent féconder. Ce processus est appelé l'**insémination intra-utérine de sperme**.

## 2) La capacitation

rappel : lors de la maturation épидидymaire, le spz subit des changements majeurs de répartition au niveau de sa membrane. C'est la décapacitation ou perte du pouvoir fécondant.

Une fois entré dans le tractus génital et dans le canal cervical, le spz a appris à bouger mais il se déplace tout doucement. Pour aller plus vite, il va enclencher le phénomène de capacitation afin de récupérer un mouvement hyper activé ainsi que son **pouvoir fécondant**. Elle dure **6 à 7h** dans l'espèce humaine (mais que 30 min chez la souris). Attention, le prérequis est **l'absence de liquide séminal++**, sinon il n'y a pas de capacitation.



*PS : 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 !*

Concrètement, on enlève toutes les protéines de la membrane qui ont été déposées dans l'épididyme. Elles se lient à l'albumine ou a des GAG (glycosaminoglycanes), laissant la membrane plasmique exposée, sans protection. Les sites d'interaction avec l'ovocyte II sont alors exposés, sans lesquels on ne pourrait pas avoir de fécondation.

### Description :

- ① efflux de **cholestérol** qui permet l'activation des canaux ioniques et l'influx de  **$Ca^{++}$**  (restauration de la fluidité membranaire)

②  $Ca^{2+}$  qui active l'adénylate cyclase (AC) qui permet la synthèse d'AMPc à partir d'ATP

③ AMPc qui active la PKA (les protéines du flagelle sont phosphorylées ce qui permet le mouvement hyperactivé)

Pour tamponner l'électropositivité du  $Ca^{2+}$ , on a aussi un influx de  $HCO_3^-$  (bicarbonates), associé à une restauration de la fluidité membranaire. Cette fluidité permet de démasquer les **récepteurs oligosaccharidiques** spécifiques aux gamètes femelles, qui vont interagir avec la zone pellucide.

En enlevant ses couvertures, le spz retrouve un **mouvement sinusoïdal** avec un flagelle hyper mobile qui lui permet de remonter à travers le tractus génital féminin. A travers le canal cervical, on perd de nouveau un nombre énorme de spz : **0,1%** seulement arriveront dans la cavité utérine. Les prostaglandines contenues dans le liquide spermatique vont posséder des récepteurs au niveau du col utérin et induire des contractions du myomètre.

Au niveau de la trompe, **0,01%** de l'éjaculat a survécu soit **2000 à 3000 spz encore vivants**. L'arrivée au niveau de la trompe (= site de la fécondation au niveau de l'ampoule tubaire) se fait à peu près une heure après l'éjaculation.

Les spz arrivent près de l'ovocyte entouré de ces cellules du cumulus oophorus (= masse de cellules de la granulosa). De plus, sa zone pellucide le protège des attaques extérieures. Pour rentrer, le spz essaye de passer à tout prix en passant entre les cellules grâce à son mouvement hyperactivé, mais aussi surtout grâce à des **hyaluronidases** présentes dans le tractus génital féminin.

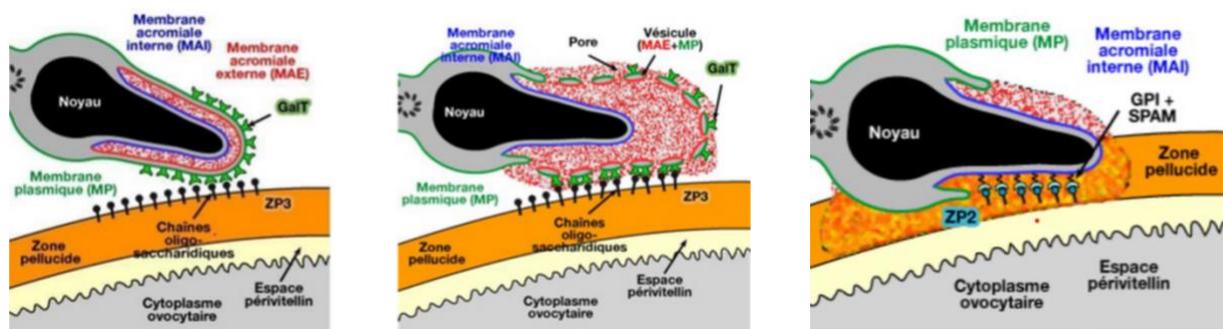
Ces **hyaluronidases** vont lyser l'acide hyaluronique qui lie les cellules du cumulus. Plus le cumulus avance dans le TGF, plus il rencontre de hyaluronidases et moins il y aura de cellules autour de ce cumulus. En fonction du site de rencontre, le spz aura donc plus ou moins d'effort à fournir pour traverser les enveloppes.

### 3) La réaction acrosomique

Le spz doit encore finir sa maturation car il possède toujours son acrosome. Il doit alors procéder à une réaction acrosomique, sans laquelle il ne peut pas interagir avec l'ovocyte. 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.

Chez les rongeurs, on sait parfaitement ce qu'il se passe, mais chez l'homme on n'arrive toujours pas à déterminer les molécules. Chez la souris, on trouve donc une interaction au niveau de la membrane du spz entre la  **$\beta$ 1,4 galactosyltransférase (GalT)** et les **chaines oligosaccharides de type O** liées à ZP3.

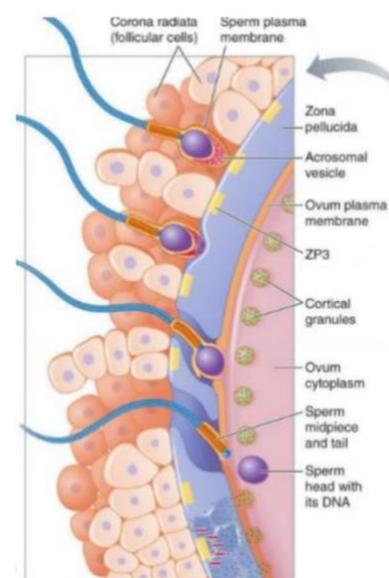
Chez l'Homme, il y a probablement intervention d'une alpha-D-mannosidase et d'autres protéines comme SP95.



L'interaction récepteur de membrane **GalT/chaines 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<sup>2+</sup>** 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. Ce contenu comprend des enzymes, des lysosomes qui ont pour but de détruire ce qu'il y a autour d'eux.

De cette façon, le spz peut avancer dans la zone pellucide et la dilacérer pour approcher l'ovocyte. 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 ++.



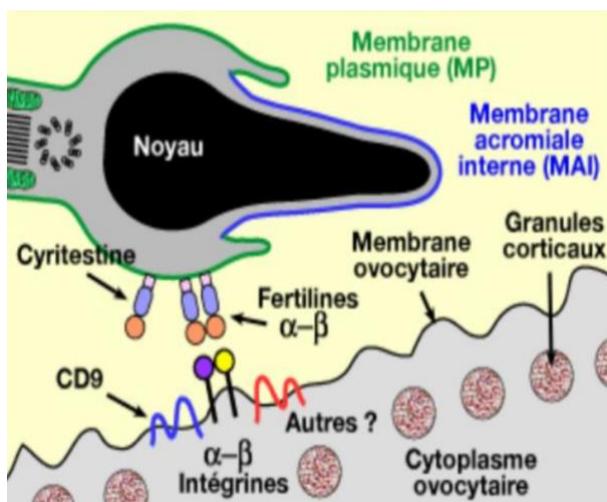
## 4) La fécondation

La fécondation a proprement dite se déroule en 3 étapes : la fusion des membranes, l'activation ovocytaire et la fusion des pronoyaux.

### a) 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 »).

Le phénomène de fusion des membranes est assez simple. Le spz n'a plus son acrosome : il ne lui reste que sa **tête**, son **flagelle** et ses **sites d'interactions sous acrosomaux**.

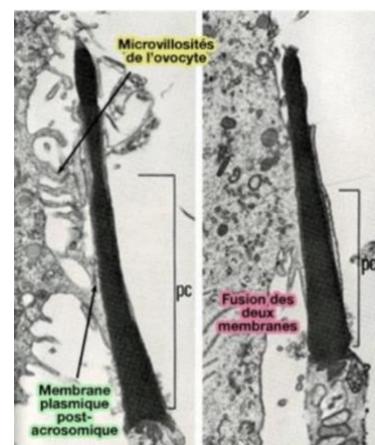


Chez l'Homme, la fusion membranaire fait appel à des **protéines ADAMs (métalloprotéases)**, principalement la sous-unité  $\beta$  (= fertiline  $\beta$ ). Elle est portée par la membrane plasmique post-acrosomique du spz, donc en arrière de l'acrosome. Elle interagit avec **l'intégrine  $\alpha 6-\beta 1$**  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.

Chez le rat, on a également cette fusion et on voit progressivement l'insertion de l'acrosome et du spz à l'intérieur de l'ovocyte.

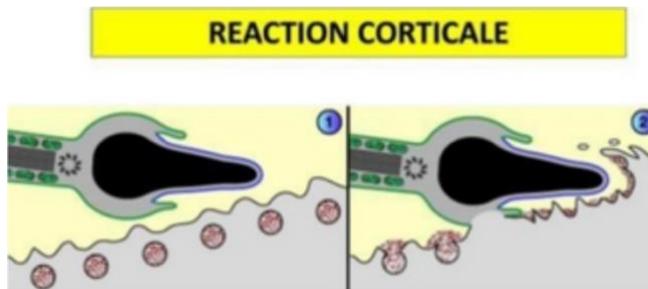
Une fois que le spz a fusionné avec la membrane, la diploïdie est quasiment restaurée (on ajoute 23K du spz aux 23K de l'ovocyte, ce qui fait 46K).

Ainsi l'urgence est d'empêcher l'apparition d'un 2e spz car sinon l'embryon sera un individu triploïde non viable.



## b) L'activation ovocytaire

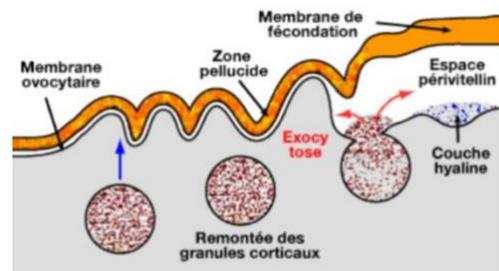
C'est la clé de régulation qui empêche la **polyspermie** (pénétration de plusieurs spz). Elle permet de rendre la **membrane ovocytaire imperméable** à tout nouveau spz. Elle fait immédiatement suite à la fusion des membranes, les autres spz resteront donc bloqués dans l'espace péri-vitellin.



Cette régulation est sous la dépendance principale d'un **signal calcique**, qui entraîne la formation d'**IP3** par activation de la **PLC**. Des granules corticaux vont également monter jusqu'à la membrane et libérer leur contenu par exocytose. Ce

contenu est composé de GAGs qui se retrouvent dans l'espace péri-vitellin (juste sous la ZP). 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.

Cependant dans d'autres espèces comme les oursins, il y aura la création d'un espace supplémentaire toxique en changeant le degré de tonicité de sa membrane. La présence d'eau sous la zone pellucide augmente et en changeant la tonicité, les mouvements calciques ne peuvent pas se faire et le spz ne peut pas rentrer.



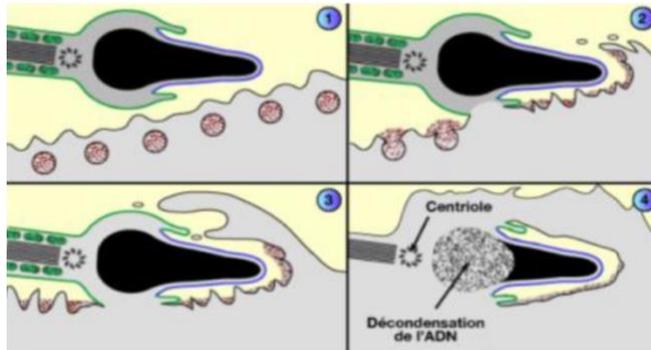
Oursin → membrane de fécondation avec espace péri-vitellin rempli de GAG et d'eau

## c) La fusion des pronoyaux



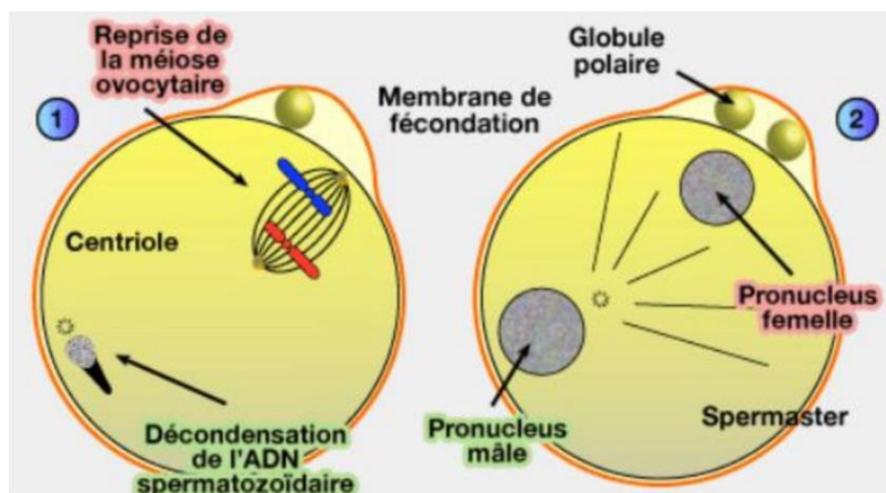
Ensuite, la réaction nucléaire correspond à la **fin de la seconde division de méiose**. L'anaphase et la télophase 2, très courtes, permettent la séparation des lots de chromatine, qui aboutit à l'**expulsion d'un 2<sup>e</sup> globule polaire** dans l'espace péri-vitellin, et la constitution du pronoyau femelle (PN). Ce **2<sup>e</sup> globule polaire** est le **témoin de la fécondation++**.

Chez le spz, tout est détruit **sauf le noyau et le centriole proximal ++** qui sert à attacher le fuseau de division pour le post-fécondation. 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 réticulum plasmique**, tout comme pour le PN femelle.

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.



Par la suite, la première division commence, le 1<sup>er</sup> 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**, le fuseau se constitue et 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. C'est ce qu'on appelle la **fécondation in vitro (FIV)**. Le principe est de récupérer des ovocytes pour les mettre dans une boîte de pétri avec des spz autour. Ces spz sont soumis à la **capacitation** et la **réaction acrosomique** via des molécules. Une fois capacités (*étape indispensable*), ils sont mis au contact des ovocytes.

**L'insémination intra-cytoplasmique (ICSI)** est une technique de **FIV** particulière, dans laquelle une pipette récupère les spz au microscope par un système de pression négative. Puis une pipette beaucoup plus grosse tient l'ovocyte secondaire et la première pipette vient perforer la zone pellucide, rentre à l'intérieur de l'ovocyte et dépose l'entièreté du spz. En **ICSI**, le mécanisme est **court-circuité**, il va plus loin que dans la **FIV** simple car le **franchissement de la zone pellucide par le spz est supprimé**.



Ainsi, la **FIV** standard est plutôt utilisée pour des **infertilités tubaires**, c'est-à-dire des patientes qui ont des anomalies du tractus génital : les spz ne peuvent pas remonter. Alors que la technique **d'ICSI** est plus utilisée lorsque les spz ne sont **pas de très bonne qualité**, quand il y en a peu par exemple pour être certain qu'il y ait une fécondation.

*Finnn de ce super cours, qui vous a paru horrible à la première lecture je n'en doute pas. Il est assez compliqué à assimiler et à comprendre car il y a beaucoup de molécules à retenir mais une fois que vous avez bien compris vous allez trop l'aimer. Concernant le contenu du cours en lui-même, j'ai mixé la ronéo et la fiche tut de l'année dernière parce que il n'y avait absolument pas les mêmes infos mdr donc un peu chiant. Dès que le cours sort en présentiel, je modifierai si besoin (en espérant que ça change pas trop lol). Je vous le sort quand même avant le présentiel, comme ça vous pouvez commencer votre apprentissage et comprendre quelque chose quand le prof vous fera le cours.*

*Bon courage pour ce mois d'octobre, c'est pas le plus pire mdr ♡*

Dédisss :

Dédi à nono (1<sup>ère</sup> dédi pour la personne la plus importante ???? 😊)

Dédi à vaporume tu me manques trop 😞😞

Dédi forcée à son cousin puisque j'ai promis d'en faire une dans toutes mes fiches

Dédi à Anaïs ma partenaire pour les soirées dansantes

Dédi à la P2 c'est pas mal quand même

Dédi au TP dissection c'était incroyable (vous allez voir c'est vraiment la classe)

Parcontre pas dédi au cours d'anglais obligatoire à 8h jeudi qui m'empêche d'aller à marseille

Pas dédi non plus à la maladie qui me détruit la gorge et les bronches 😞

Pas dédi à la personne qui m'a refilé ça (mais force à toi quand même ducoup)

Pas dédi aux heures de conduites que je vais devoir faire un jour j'ai trop peur

