

Fécondation

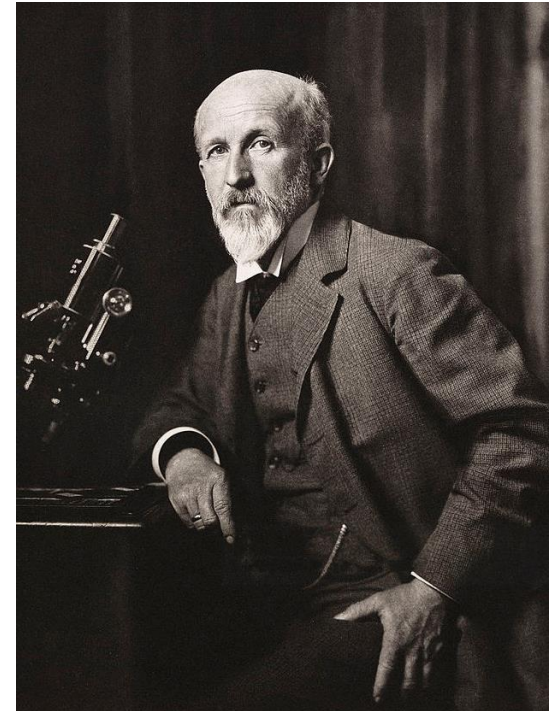
Dr Elsa Labrune, MD PhD
Hôpital Femme Mère Enfant
Service de Médecine de la Reproduction

Un peu d'histoire ...

Oscar Hertwig, 1875

Fusion du spz + ovule

→ Œuf



Fécondation *in vitro*

1978, Angleterre

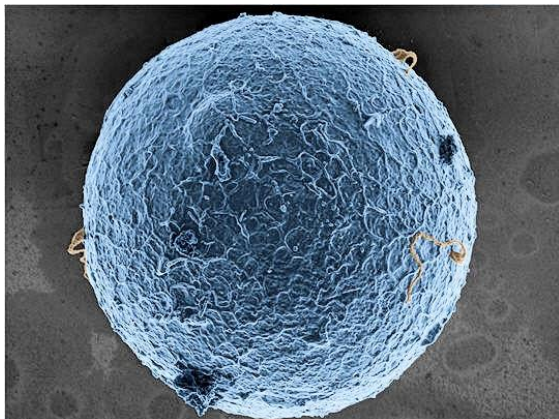
→ Naissance de Louise Brown

Définition

= fusion de 2 gamètes mâle et femelle
haploïdes pour constituer un œuf dit zygote
diploïde

» Pérennité de l'espèce

» Diversité des individus



Plan chronologique (1)

I. Rencontre des gamètes

- » Maturation des gamètes
- » Lieu de la fécondation
- » Migration des spz
- » Migration de l'ovocyte

II. Interaction gamétique

- » Cumulus oophorus
- » Zone pellucide
- » Fusion membranaire

Plan chronologique (2)

III. Activation de l'œuf

- » Réaction corticale
- » Reprise de la méiose
- » Formation des 2 pronoyaux

IV. L'amphimixie

V. La 1^{ère} division cellulaire

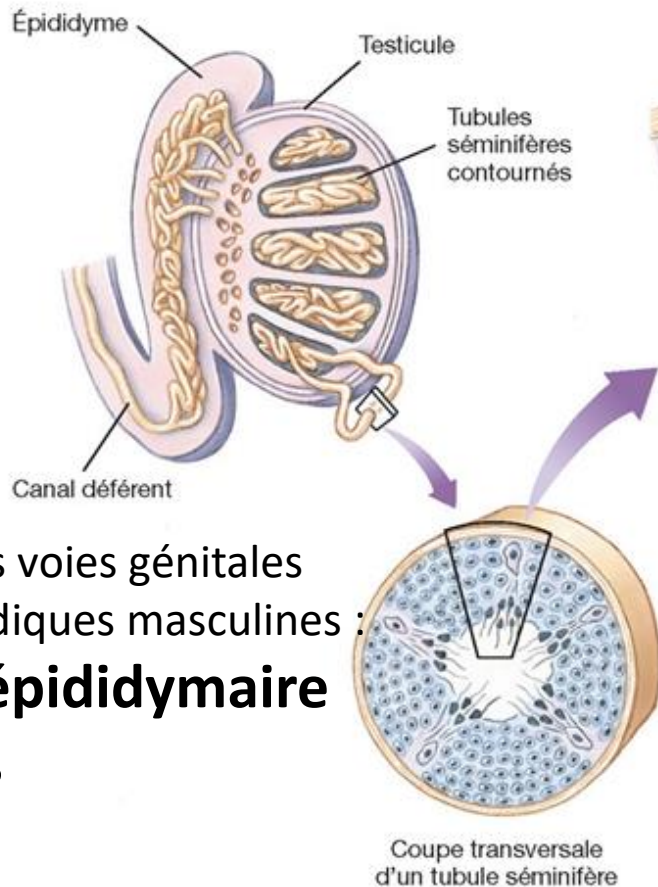
VI. Les conséquences de la fécondation

VII. Les anomalies de la fécondation

I-Rencontre des gamètes

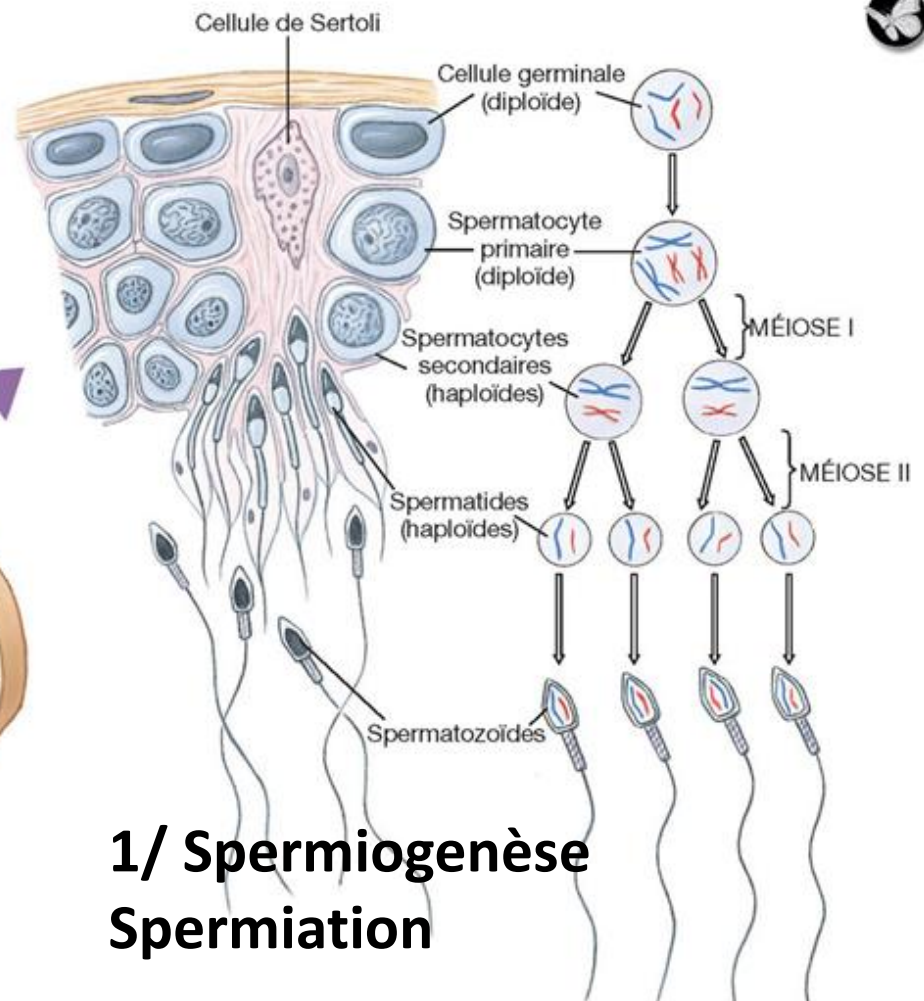
>> Maturation des gamètes

1.1. Les spermatozoïdes



2/ Dans les voies génitales
extragonadiques masculines :
transit épидидymaire
10 jours

3/ Dans les voies génitales féminines



1/ Spermiogenèse Spermiation

I-Rencontre des gamètes

>> Maturation des gamètes

1.1. *Les spermatozoïdes*

- **au cours du transit épидидymaire**

➤ **Mobilité des spz :**

- mobilité **linéaire** acquise dans le corps de l'épididyme,
- androgéno-dépendante

➤ **Modification des molécules membranaires des spz**

(PH30, PH20) : reconnaissance/fixation à la zone pellucide (ZP)

- acquises au cours de la **spermiogenèse** (PH20) mais fonctionnelles après le transit épидидymaire, androgéno-dépendant
- acquises au cours du **transit épидидymaire** : molécules d'origine épидидymaire
- MAIS ces protéines → décapacitation

I-Rencontre des gamètes

>> Maturation des gamètes

1.1. Les spermatozoïdes

- **au cours du transit épидидymaire**

➤ **Condensation de l'ADN des spermatozoïdes**

- Ponts disulfures entre les cystéines des protamines

➤ **Modification de la composition lipidique de la membrane :**

- fluidité/stabilité membranaire

une augmentation des stérols s'associe à une diminution des phospholipides (stérols > phospholipides):

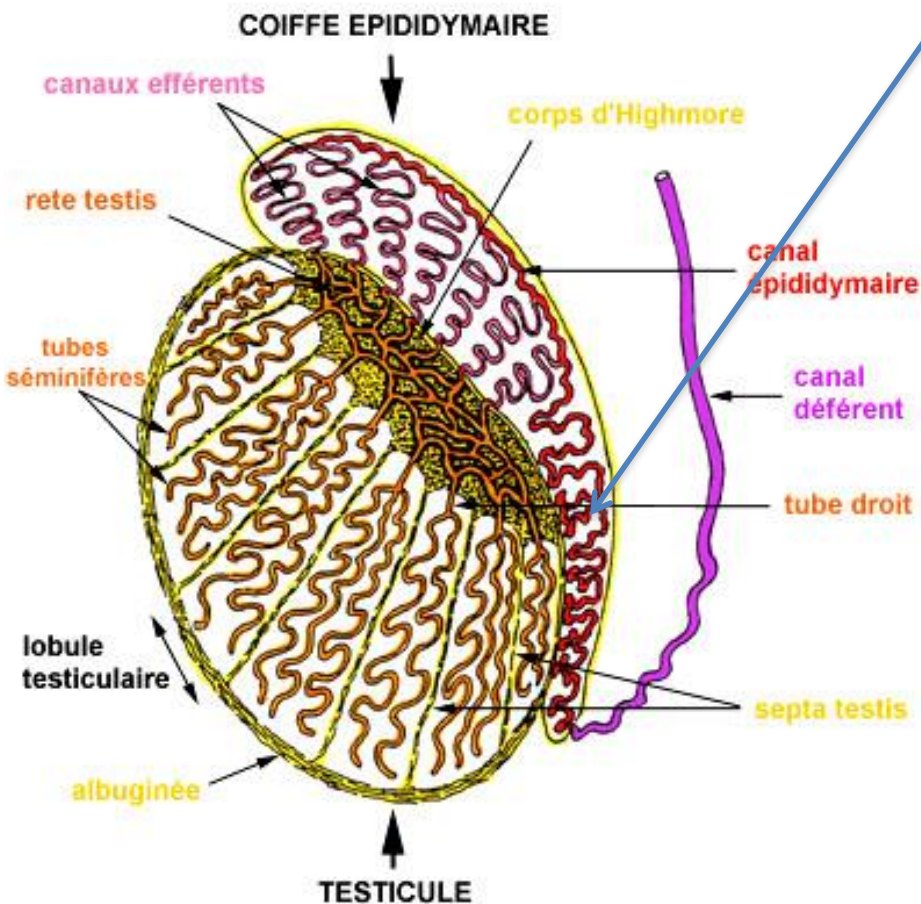
stabilité membranaire

I-Rencontre des gamètes

>> Maturation des gamètes

1.1. Les spermatozoïdes

- au cours du transit épидидymaire



Queue de l'épididyme

Réservoir des spz immobiles

Répression du pouvoir fécondant
par fixation sur la membrane
plasmique de
molécule épидидymaire
Human Epididymal HE1



Stabilité membranaire
Blocage de la réaction
acrosomique prématurée

I-Rencontre des gamètes

>> Maturation des gamètes

1.1. Les spermatozoïdes

- Dans les voies génitales féminines

La **capacitation**

= Transformation éphémère et réversible du spermatozoïde éjaculé jusqu'alors non fécondant *in vivo*

Capacitation : capacité à féconder

Ré-acquisition du pouvoir fécondant (Chang & Austin)

- Pouvoir fécondant acquis dans l'épididyme **mais** masqué
- « Démasquage » **dans les voies génitales féminines par élimination du plasma séminal et modification de la membrane plasmique du spz**
- Phénomène **réversible**

I-Rencontre des gamètes

>> Maturation des gamètes

1.1. Les spermatozoïdes

- Dans les voies génitales féminines

La **capacitation**

Buts de la capacitation => spz fécondant

- acquisition d'un mouvement hyperactif
- capacité du spz à effectuer sa réaction acrosomique
- capacité à reconnaître la zone pellucide

I-Rencontre des gamètes

>> Maturation des gamètes

1.1. Les spermatozoïdes

- Dans les voies génitales féminines : la **capacitation**

Modifications de la membrane plasmique des spz

- démasquage d'antigènes de surface impliqués dans la reconnaissance des gamètes
- adsorption des protéines inhibitrices de la réaction acrosomique
- formation de régions membranaires instables dépourvues de protéines (phospholipides > stérols)
 - Fluidité membranaire
 - Pénétration du calcium
 - Réaction acrosomique
- élimination de résidus glucidiques

I-Rencontre des gamètes

>> Maturation des gamètes

1.1. Les spermatozoïdes

3-5 heures

- Dans les voies génitales féminines : la **capacitation**

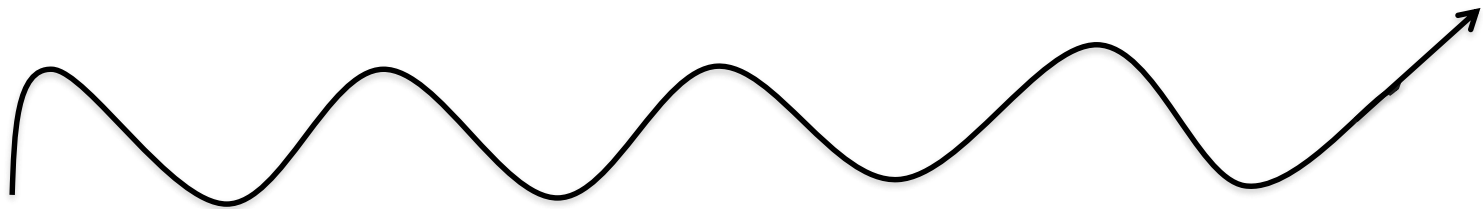
Csq du remaniement de la membrane plasmique des spz

→ *Démasquage des récepteurs spermatiques*

→ *Fluidification de la membrane : + perméable*

→ *Afflux de calcium intracellulaire :*

→ **mouvement hyperactif** des spz, nécessaire à la fécondation qui va permettre la réaction acrosomique **irréversible**



→ réaction acrosomique et fusion membranaire

I-Rencontre des gamètes

>> Maturation des gamètes

1.1. Les spermatozoïdes

- Dans les voies génitales féminines : la **capacitation**

IN VITRO

- Capacitation obtenue après élimination du plasma séminal :
 - Lavage
 - Migration ascendante
 - Filtration sur gradient de densité
- Phénomène réversible
 - Ajout de plasma séminal

I-Rencontre des gamètes

>> Maturation des gamètes

1.2. Les ovocytes

- Reprise de la méiose

12h avant l'ovulation après le pic de LH,

- **Maturation nucléaire**

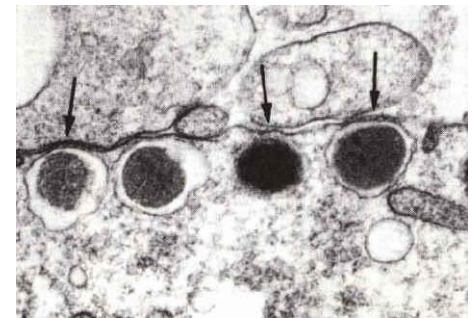
par levée d'inhibition suite à la rupture des jonctions communicantes entre les cellules folliculeuses et l'ovocyte

- ✓ émission du 1^{er} GP

- ✓ blocage en métaphase II

- **Maturation cytoplasmique**

- ✓ migration des granules corticaux



I-Rencontre des gamètes

>> Maturation des gamètes

1.2. Les ovocytes

Maturation nucléaire

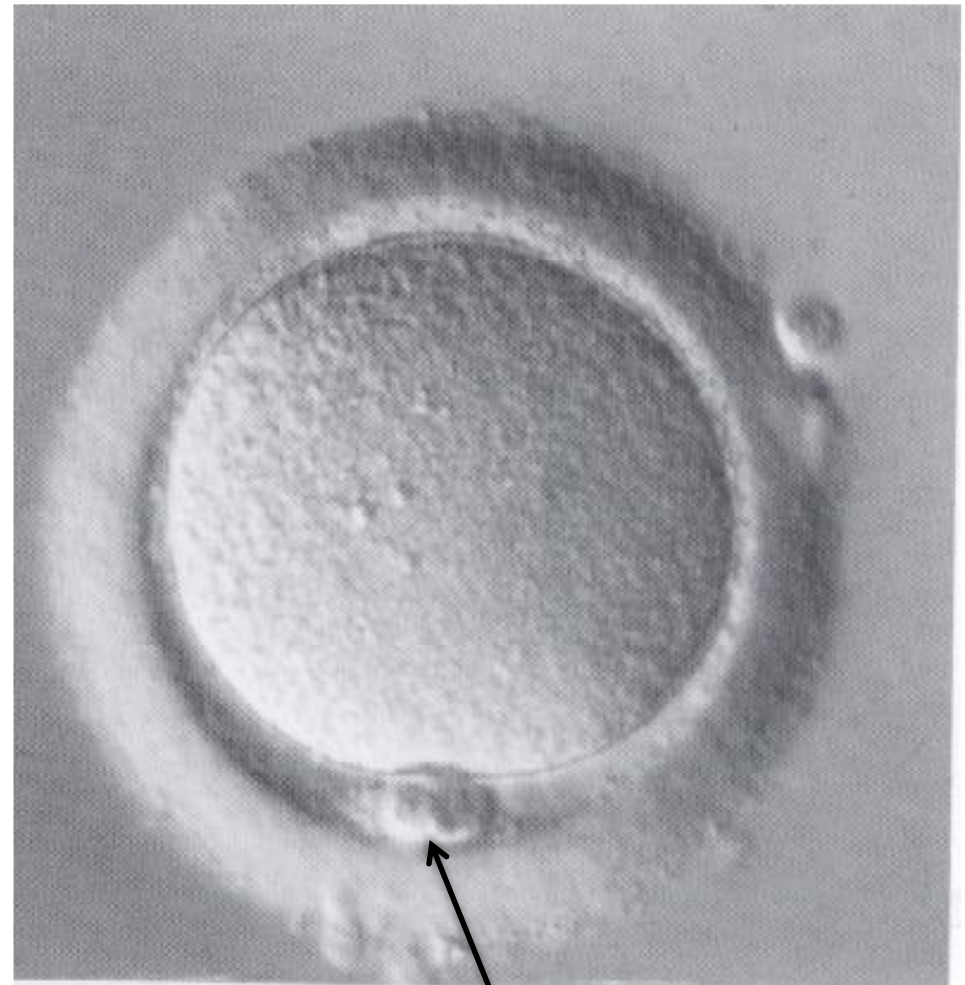
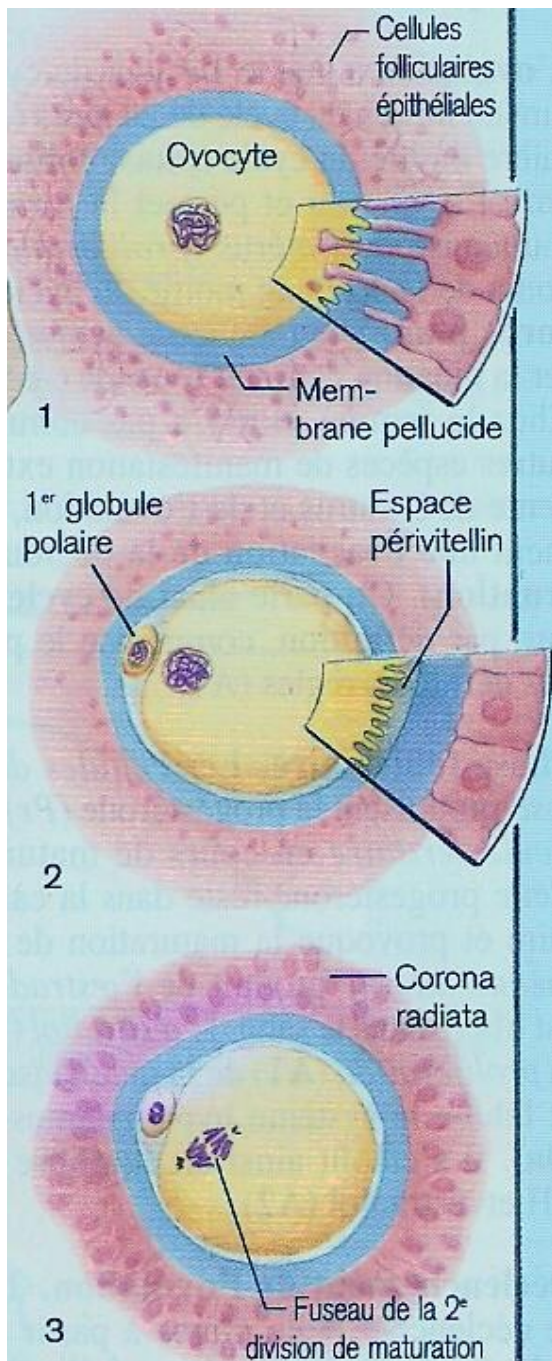


▶ Jonction perméable

→ Jonction adhérente

Microscopie électronique
Ovocyte – cellules de la
corona radiata

Ovocyte II bloqué en métaphase II



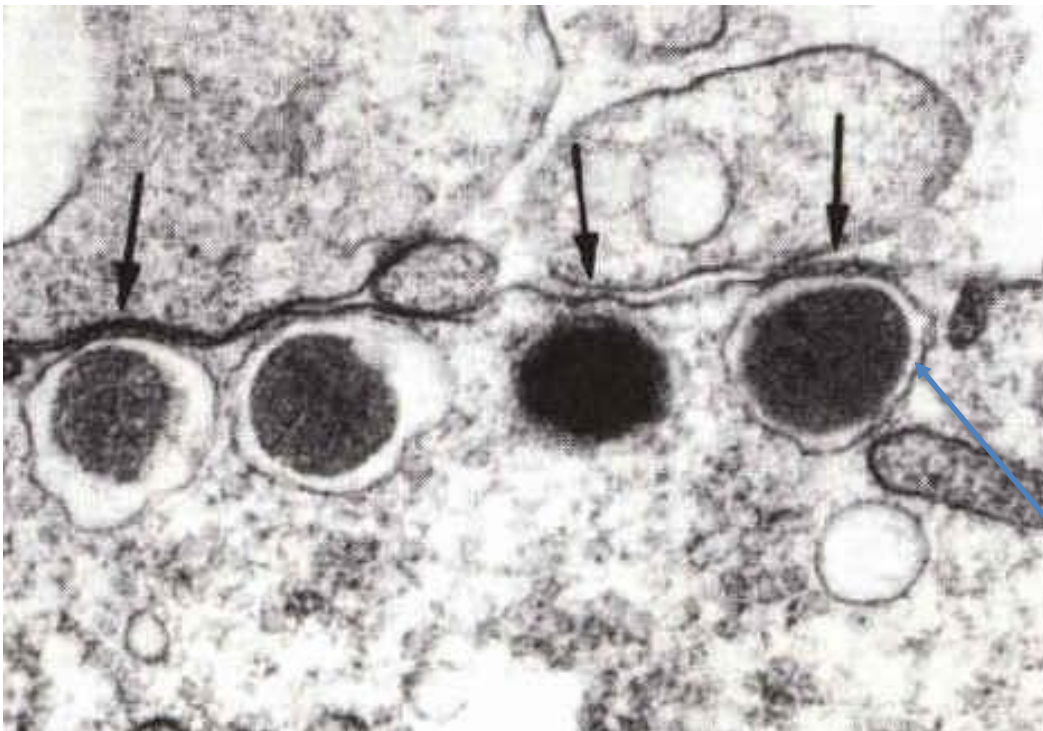
1^{er} globule polaire

I-Rencontre des gamètes

>> Maturation des gamètes

1.2. Les ovocytes

Maturation cytoplasmique



→ Ponts entre la membrane des vésicules et la face interne de la membrane cytoplasmique de l'ovocyte

Granule cortical

Plan chronologique (1)

I. Rencontre des gamètes

- » Maturation des gamètes
- » Lieu de la fécondation
- » Migration des spz
- » Migration de l'ovocyte

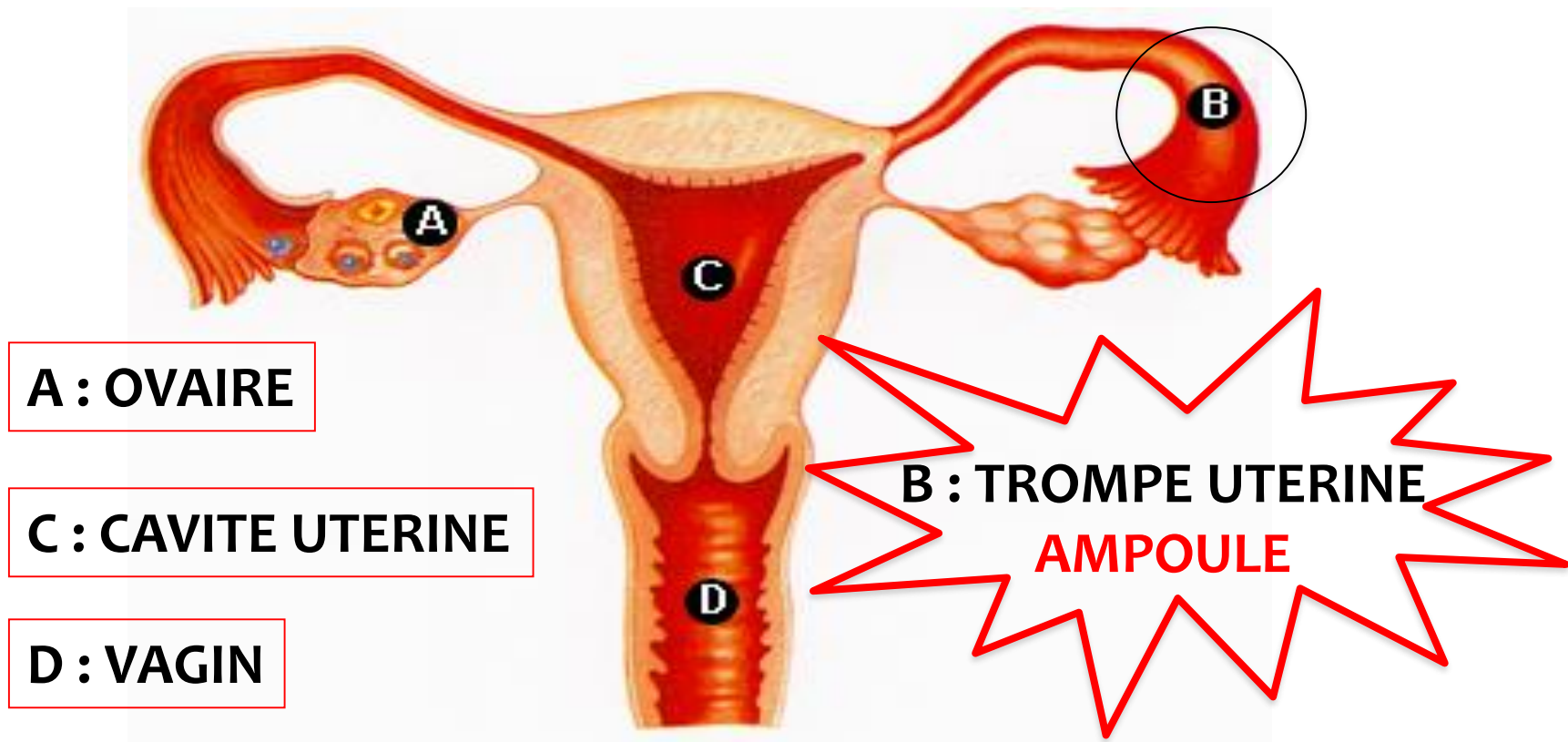
II. Interaction gamétique

- » Cumulus oophorus
- » Zone pellucide
- » Fusion membranaire

I-Rencontre des gamètes

>> Lieu de la fécondation

Tractus génital féminin



Plan chronologique (1)

I. Rencontre des gamètes

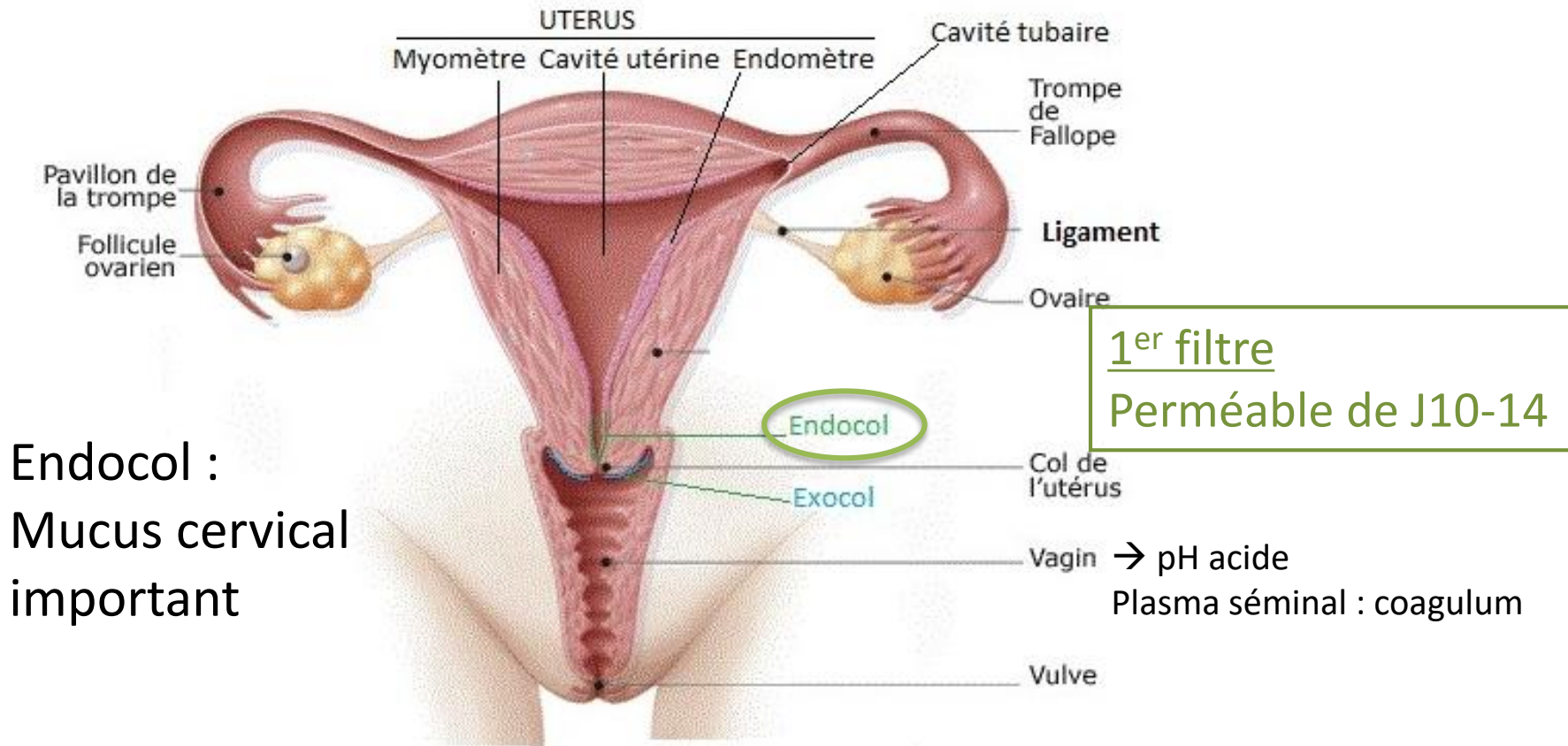
- » Maturation des gamètes
- » Lieu de la fécondation
- » Migration des spz
- » Migration de l'ovocyte

II. Interaction gamétique

- » Cumulus oophorus
- » Zone pellucide
- » Fusion membranaire

I-Rencontre des gamètes

>> Migration des spermatozoïdes

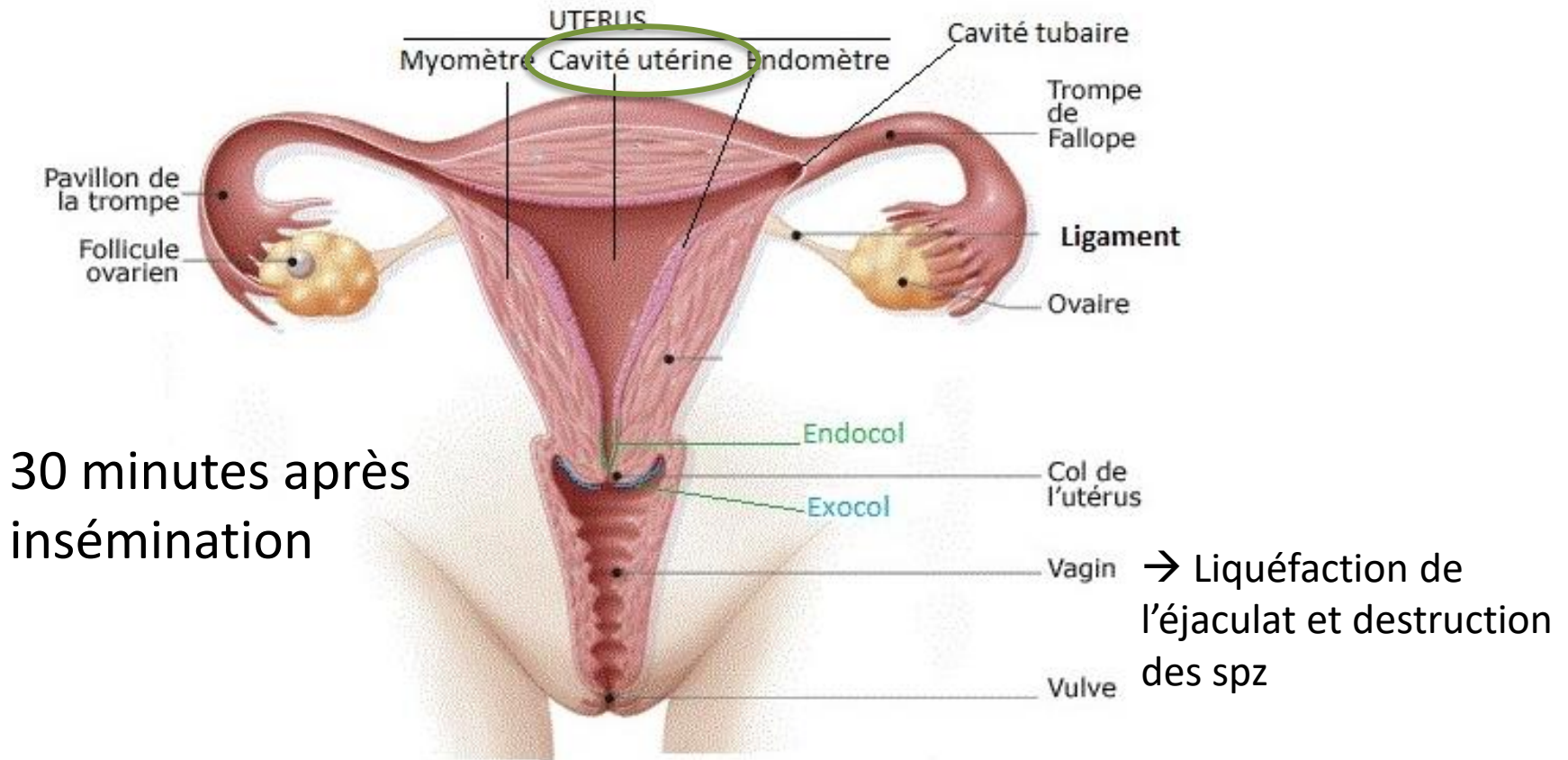


Endocol :
Mucus cervical
important

Insémination : 200-300 millions de spz
Vitesse des spermatozoïdes = 5 mm/min
Ils sont présents dans la trompe dans l'heure qui suit un rapport
mais restent présents 3-4 jours

I-Rencontre des gamètes

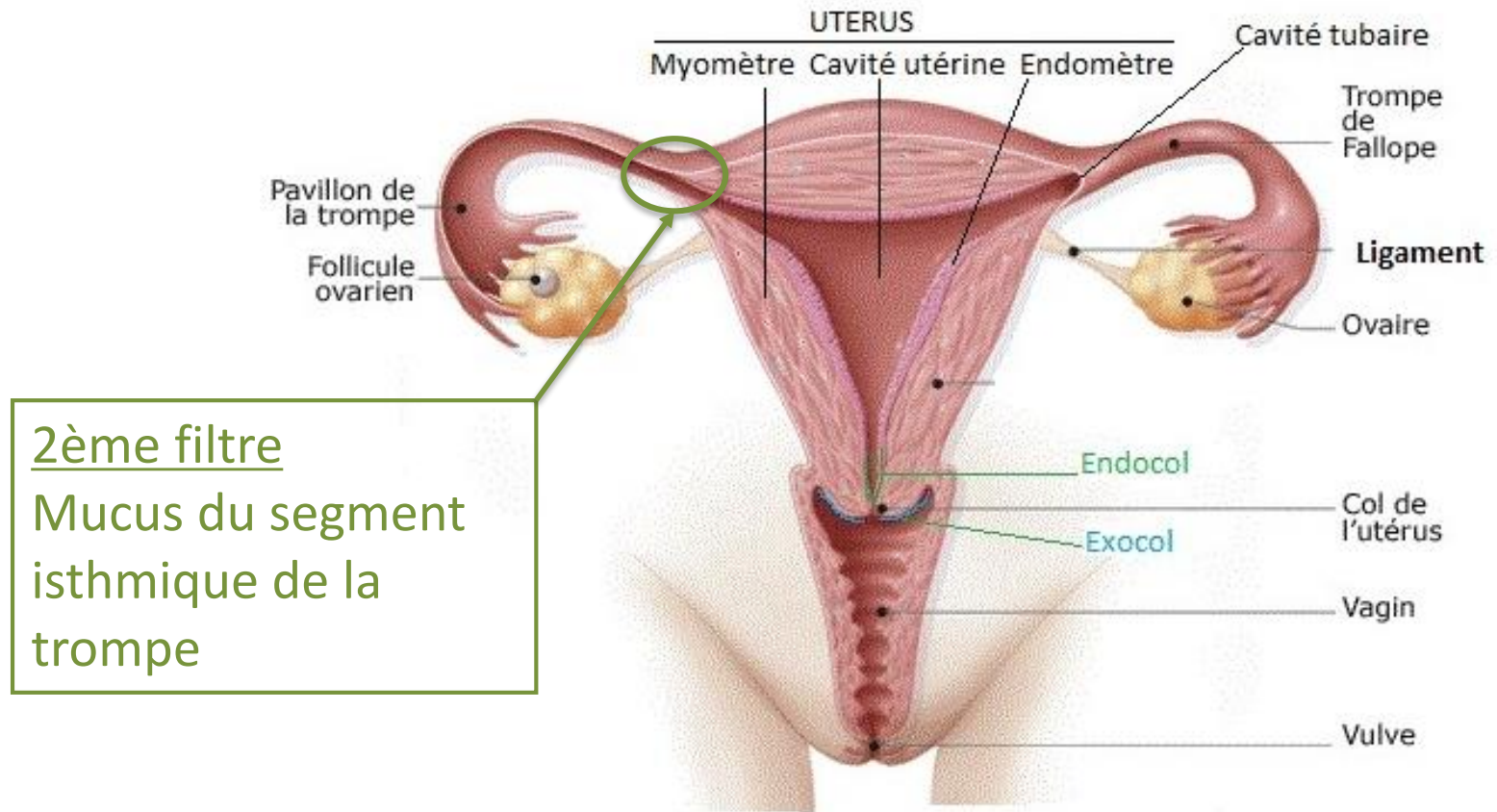
>> Migration des spermatozoïdes



Environ 1% des spz franchit le mucus cervical soit 2 à 3 millions de spz dans la cavité utérine

I-Rencontre des gamètes

>> Migration des spermatozoïdes



Plusieurs heures après l'insémination

2^{ème} filtre : qqs milliers de spz

I-Rencontre des gamètes

>> Migration des spermatozoïdes

3 filtres :

- mucus cervical (sécrété par les glandes de l'endocol utérin)
- mucus isthmique
- (cellules du cumulus)

2 réservoirs :

- canal cervical et cryptes vaginales
- jonction utéro-tubaire (isthme)

Plan chronologique (1)

I. Rencontre des gamètes

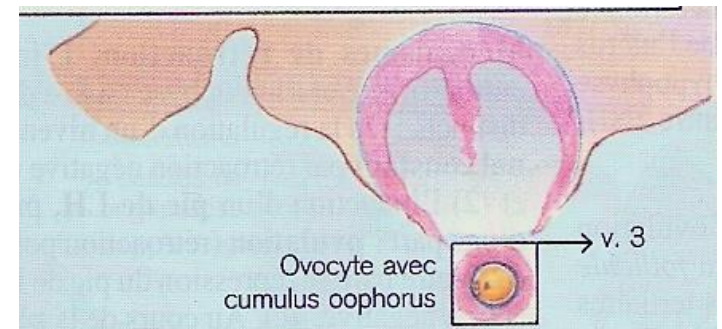
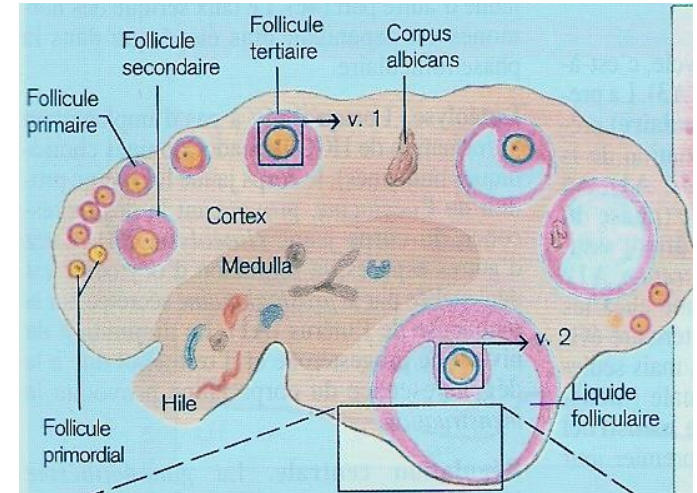
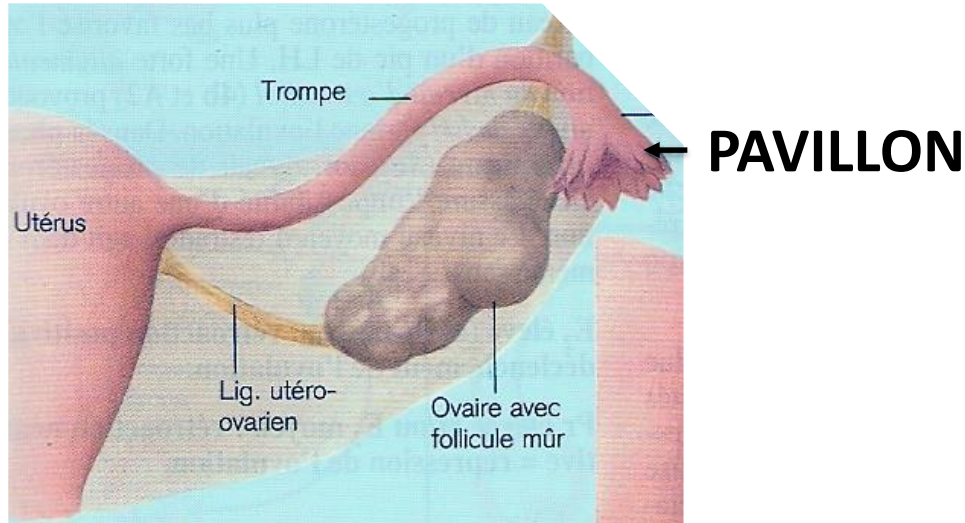
- » Maturation des gamètes
- » Lieu de la fécondation
- » Migration des spz
- » Migration de l'ovocyte

II. Interaction gamétique

- » Cumulus oophorus
- » Zone pellucide
- » Fusion membranaire

I-Rencontre des gamètes

>> Migration de l'ovocyte



OVULATION

Cumulus oophorus :

capté par les franges du pavillon

Progression passive assurée par :

- liquide péritonéal
- péristaltisme intrinsèque tubaire
- les battements ciliaires de l'épithélium tubaire

Plan chronologique (1)

I. Rencontre des gamètes

- » Maturation des gamètes
- » Lieu de la fécondation
- » Migration des spz
- » Migration de l'ovocyte

II. Interaction gamétique

- » Cumulus oophorus
- » Zone pellucide
- » Fusion membranaire

II-Interaction gamétique

>> Traversée du cumulus oophorus

Spz hyperactivé
et capacité

hyaluronidase

1/ Réaction acrosomique spontanée de quelques spermatozoïdes avant CCO
→ Libération enzymes dont hyaluronidase
→ Lyse de la matrice intercellulaire du cumulus

2/ Passage d'autres spermatozoïdes
→ RA au niveau de la ZP
→ Par fixation des spermatozoïdes à ZP3+ZP4
→ Libération d'enzymes : acrosine, hyaluronidase, ...
→ Passage autres spermatozoïdes

3/ Spermatozoïde fécondant

Plan chronologique (1)

I. Rencontre des gamètes

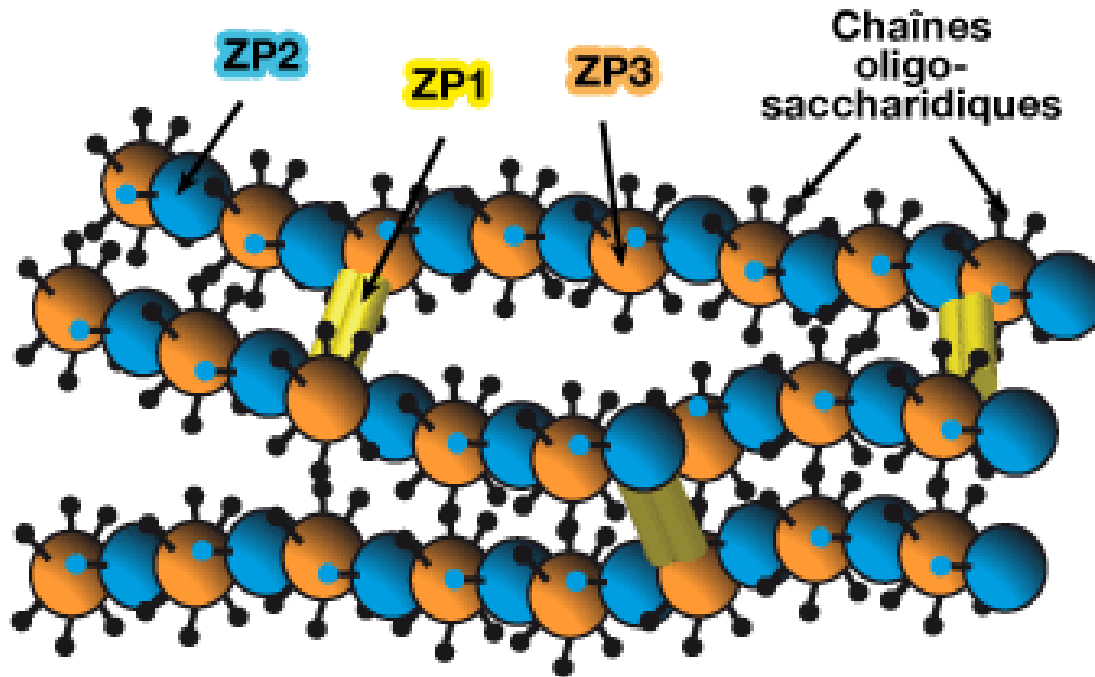
- » Maturation des gamètes
- » Lieu de la fécondation
- » Migration des spz
- » Migration de l'ovocyte

II. Interaction gamétique

- » Cumulus oophorus
- » Zone pellucide
- » Fusion membranaire

II-Interaction gamétique

>> Traversée de la zone pellucide



Composition de la ZP : 4 glycoprotéines :
ZP1, ZP2, ZP3 (liaison primaire du spermatozoïde), ZP4
(glycoprotéine mineure : 10% de la RA)

Polymères ZP2 - ZP3 reliés par ZP1

II-Interaction gamétique

>> Traversée de la zone pellucide

- 2.1. Fixation primaire des spz à la ZP
- 2.2. Réaction acrosomique
- 2.3. Fixation secondaire des spz à la ZP

II-Interaction gamétique

>> Traversée de la zone pellucide

2.1. Fixation primaire des spz à la zone pellucide

Membrane plasmique du spz INTACTE

- Spécificité d'espèce donc reconnaissance
- Liaison de type Ligand-Récepteur

Liaison **primaire** entre ZP3 et récepteurs spécifiques de la membrane plasmique des spz (**réversible**)

2.1. Fixation primaire des spz à la zone pellucide



Ligand :
chaines latérales
saccharidiques de **ZP₃**

Récepteurs : mb
plasmique des spz

II-Interaction gamétique

>> Traversée de la zone pellucide

2.2. La réaction acrosomique (RA)



Suite à la fixation primaire :

- Activation des voies de transmission intracellulaire
- Agrégation des récepteurs membranaires
- Afflux de calcium

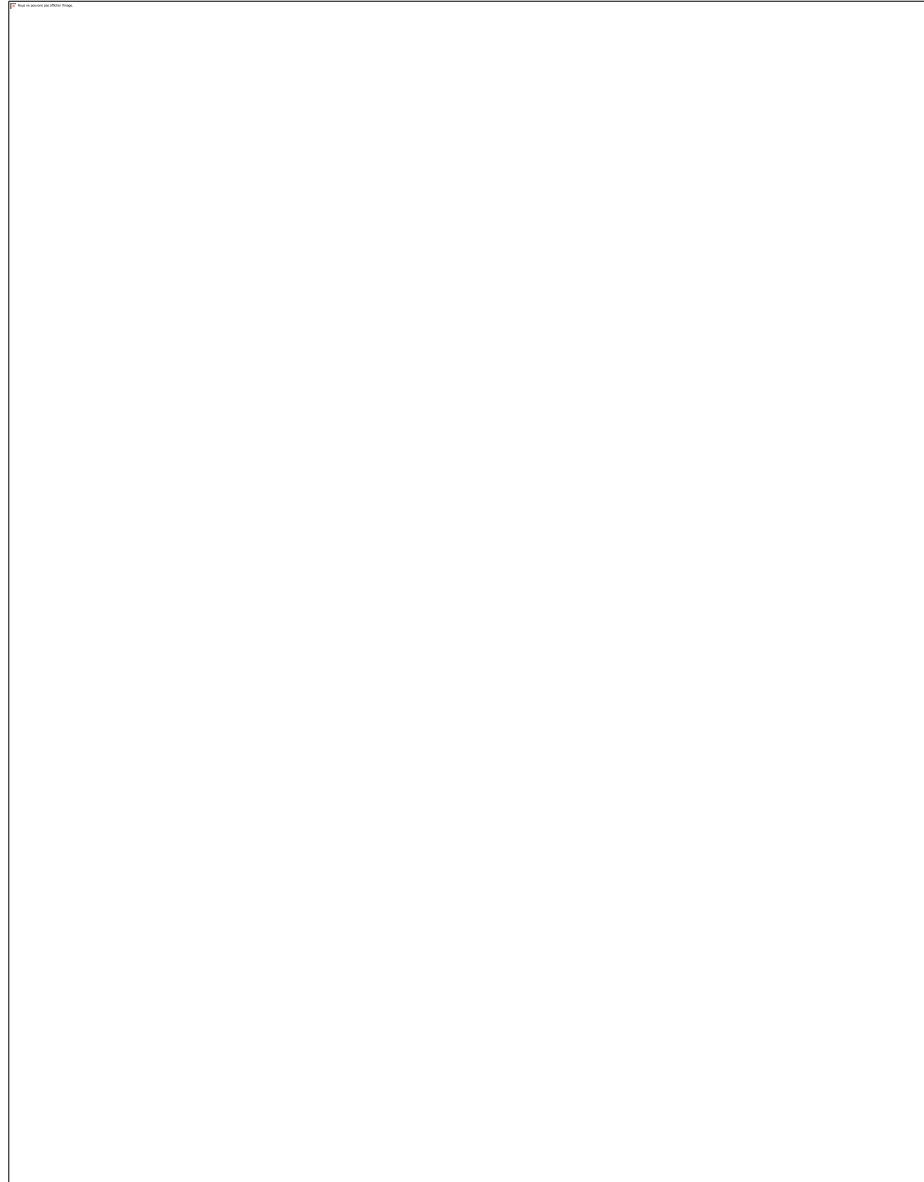
=>RA : **fusion membranaire** (mb plasmique et mb externe de l'acrosome)

- Processus d'**exocytose** qui assure la libération du contenu acrosomique (acrosine, hyaluronidase, acétylglucosaminidase)

- **Externalisation de la membrane interne de l'acrosome**

ex : l'acrosine qui hydrolyse la ZP1 et libère les filaments ZP2-ZP3

2.2. La réaction acrosomique (RA)



II-Interaction gamétique

>> Traversée de la zone pellucide

2.3. Fixation secondaire

Liaison **secondaire** entre ZP2 et récepteurs de la membrane interne de l'acrosome (**irréversible**)

Ligand : ZP2

Récepteur spz : molécules d'adhésion SPAM (sperm adhesion molecule + GPI = glycosylphosphatidylinositol)

(sur la membrane interne de l'acrosome)

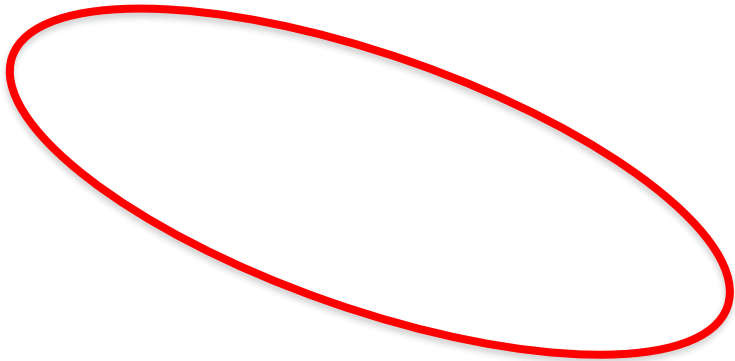
• **PH20** : protéine de reconnaissance de la ZP, enzyme de surface qui migre vers la mb interne de l'acrosome

2.3. Fixation secondaire et traversée de la ZP

Dissociation de la ZP

Lyse des molécules de la
ZP par les enzymes de
l'acrosome

Mouvements hyperactifs
des spz capacités



(A)



Plan chronologique (1)

I. Rencontre des gamètes

- » Maturation des gamètes
- » Lieu de la fécondation
- » Migration des spz
- » Migration de l'ovocyte

II. Interaction gamétique

- » Cumulus oophorus
- » Zone pellucide
- » Fusion membranaire

II-Interaction gamétique

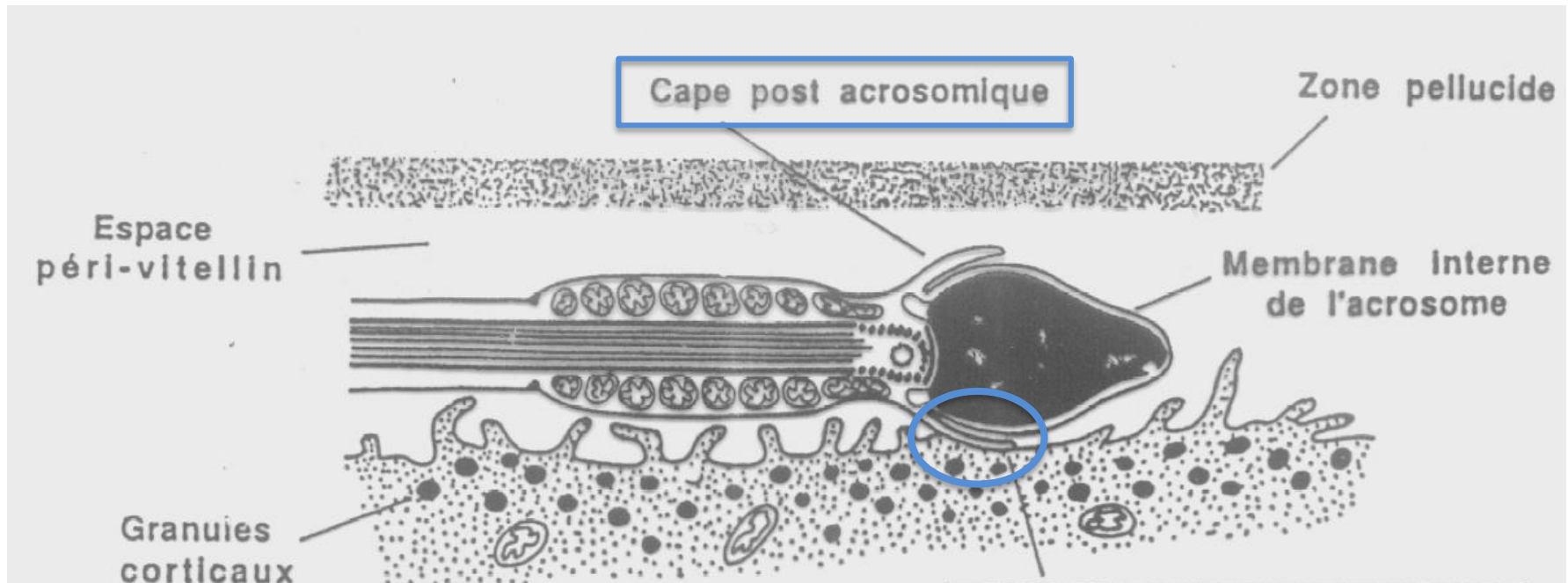
>> Fusion membranaire

Spz dans l'espace périvitellin : immobile

Spz : tangentiel à la membrane cytoplasmique de l'ovocyte

- Fusion membranaire
- Activation de l'ovocyte

La TOTALITE du spz s'introduit dans le cytoplasme de l'ovocyte



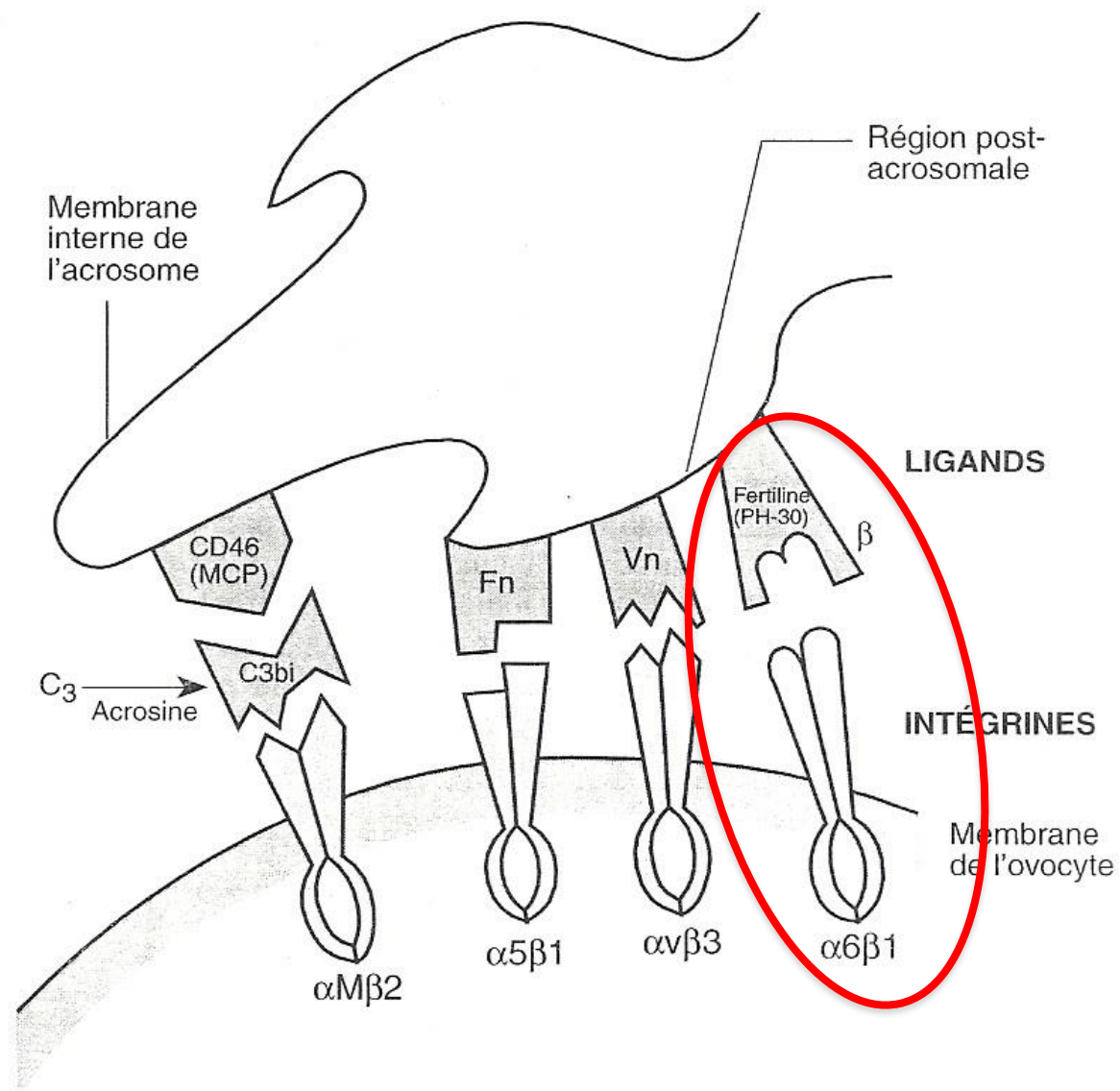


Fig. 4.6. Couples ligand-récepteur intervenant dans la reconnaissance gamétique.

Fn : fibronectine; Vn : vitronectine.

II-Interaction gamétique

>> Fusion membranaire

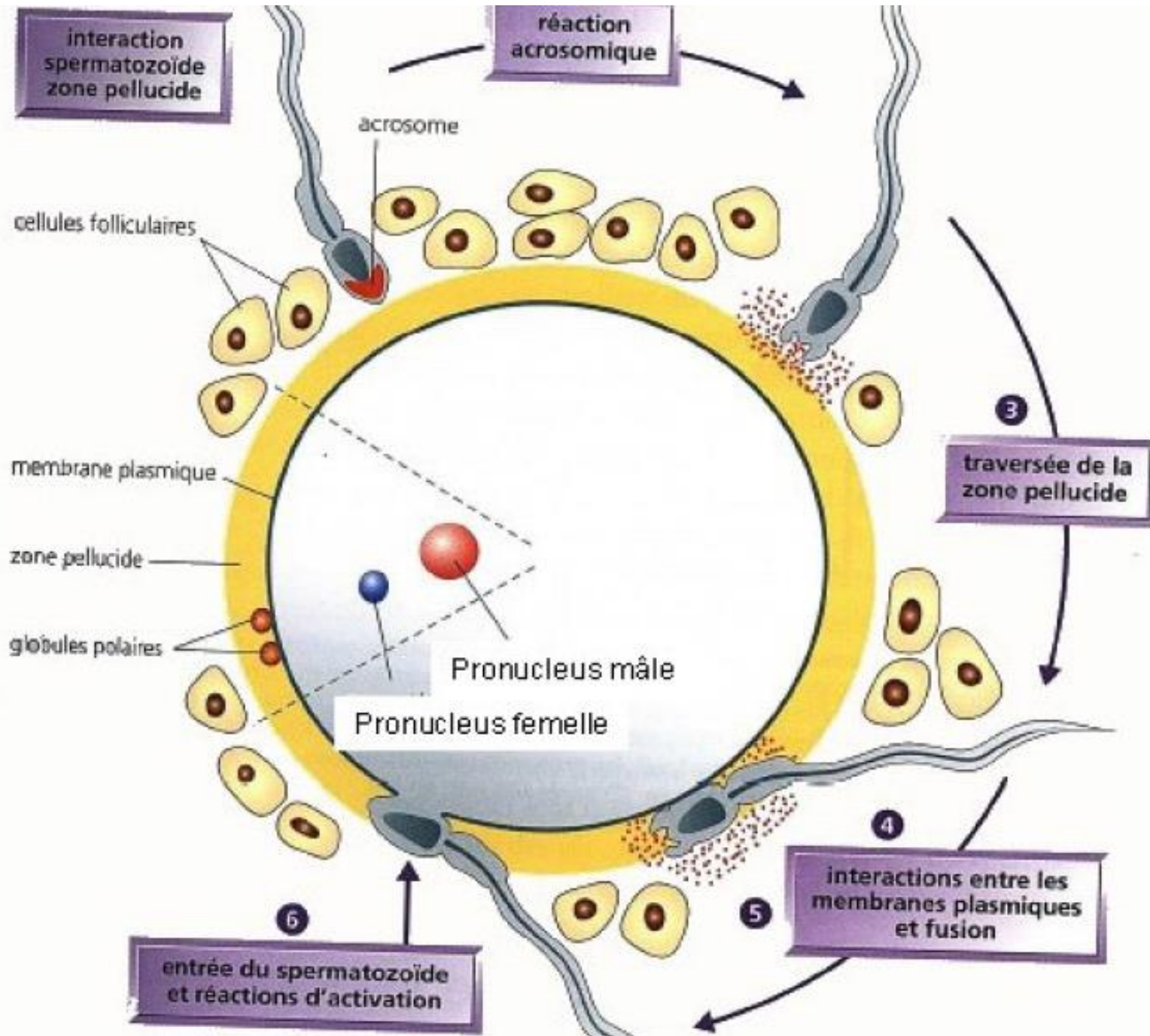
Liaison entre

- *Membrane ovocytaire (microvillosités) :*
 - intégrines
- *Membrane de la cape post-acrosomique :*
 - PH30 ou fertiline : sous unité β d'un dimère ($\alpha\beta$) (ADAM : a desintegrin metalloprotease)

DIMERE : 2 sous-unités

sous unité α
peptide de fusion
avec la mb ovocytaire

sous unité β
désintégrine
fixation du spz



Plan chronologique (2)

III. Activation de l'œuf

- » Réaction corticale
- » Reprise de la méiose
- » Formation des 2 pronoyaux

IV. L'amphimixie

V. La 1^{ère} division cellulaire

VI. Les conséquences de la fécondation

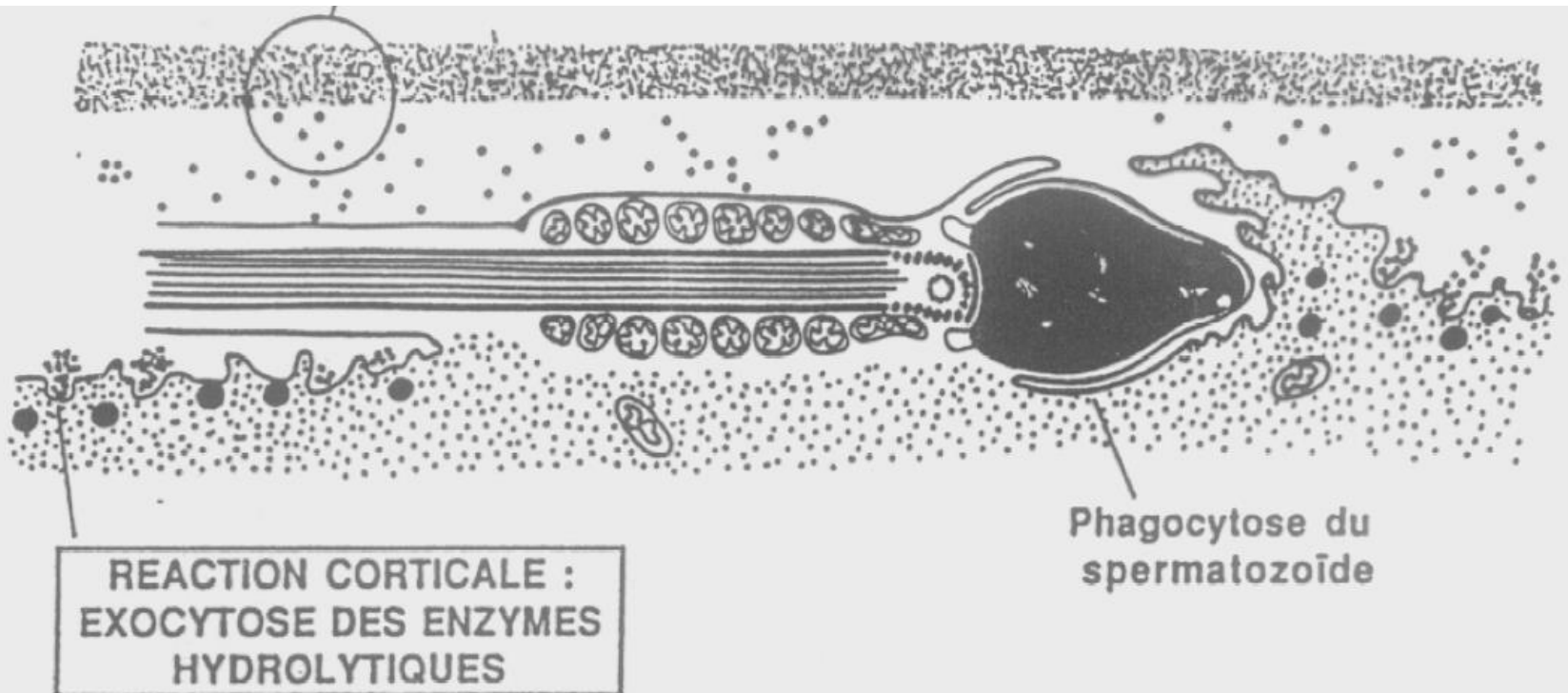
VII. Les anomalies de la fécondation

III-Activation de l'oeuf

>> Réaction corticale

La fusion membranaire

- augmentation du calcium intracellulaire
- réaction corticale



III-Activation de l'oeuf

>> Réaction corticale

Exocytose des granules corticaux

- Libération du contenu des granules corticaux dans l'espace périvitellin
- Imperméabilisation de la ZP à tous les spz
- Évite la polyspermie

Cas de triploïdie ou polyploïdie

- Fusion en même temps de 2 spz ou plus
- Réaction corticale défectueuse

Plan chronologique (2)

III. Activation de l'œuf

- » Réaction corticale
- » Reprise de la méiose
- » Formation des 2 pronoyaux

IV. L'amphimixie

V. La 1^{ère} division cellulaire

VI. Les conséquences de la fécondation

VII. Les anomalies de la fécondation

III-Activation de l'oeuf

>> Reprise de la méiose

**Emission du 2^{ème}
globule polaire**

>> Formation
des 2 pronoyaux

6-7 heures après la
traversée du CCO

III-Activation de l'oeuf

>> Formation des 2 PN

Pronoyaux : PN (haploïdes)

après reprise et achèvement de la méiose

phagocytose du spz, dissolution de la membrane nucléaire du spz et décondensation de la chromatine

Formation :

PN mâle, dislocation complète du spz

PN femelle

Cytosquelette : spermaster (à partir du centriole proximal du spz)

permet le rapprochement des PN

Plan chronologique (2)

III. Activation de l'œuf

- » Réaction corticale
- » Reprise de la méiose
- » Formation des 2 pronoyaux

IV. L'amphimixie

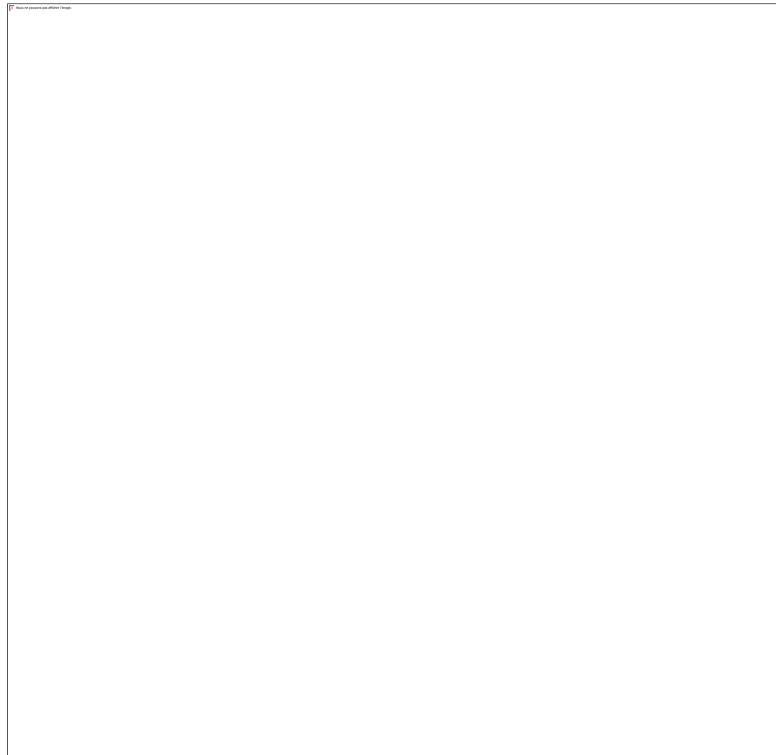
V. La 1^{ère} division cellulaire

VI. Les conséquences de la fécondation

VII. Les anomalies de la fécondation

IV-Amphimixie

- Stade où les 2 PN sont accolés sans fusion (12-20 h)
- Centrioles proches de la zone d'accolement



Plan chronologique (2)

III. Activation de l'œuf

- » Réaction corticale
- » Reprise de la méiose
- » Formation des 2 pronoyaux

IV. L'amphimixie

V. La 1^{ère} division cellulaire

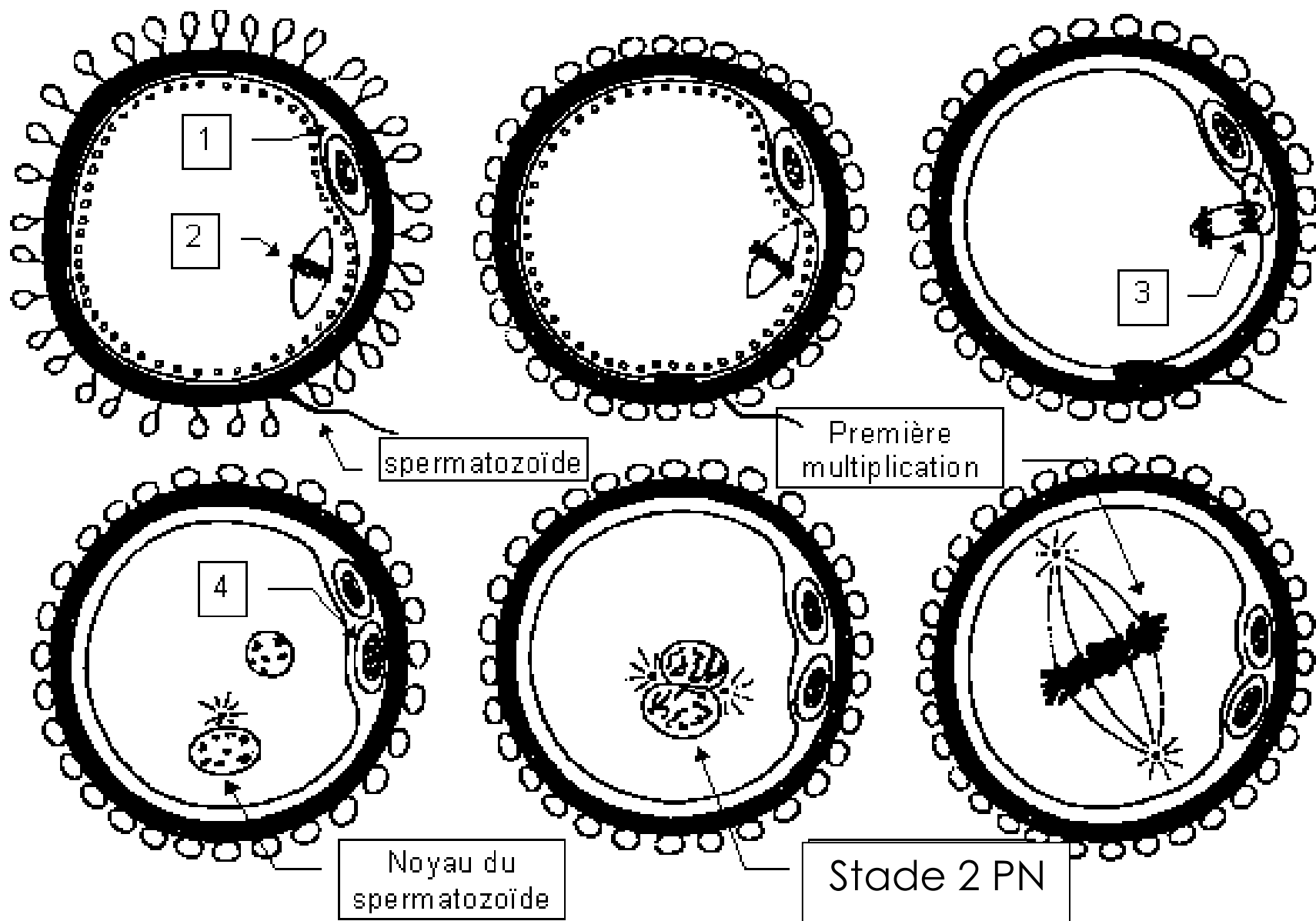
VI. Les conséquences de la fécondation

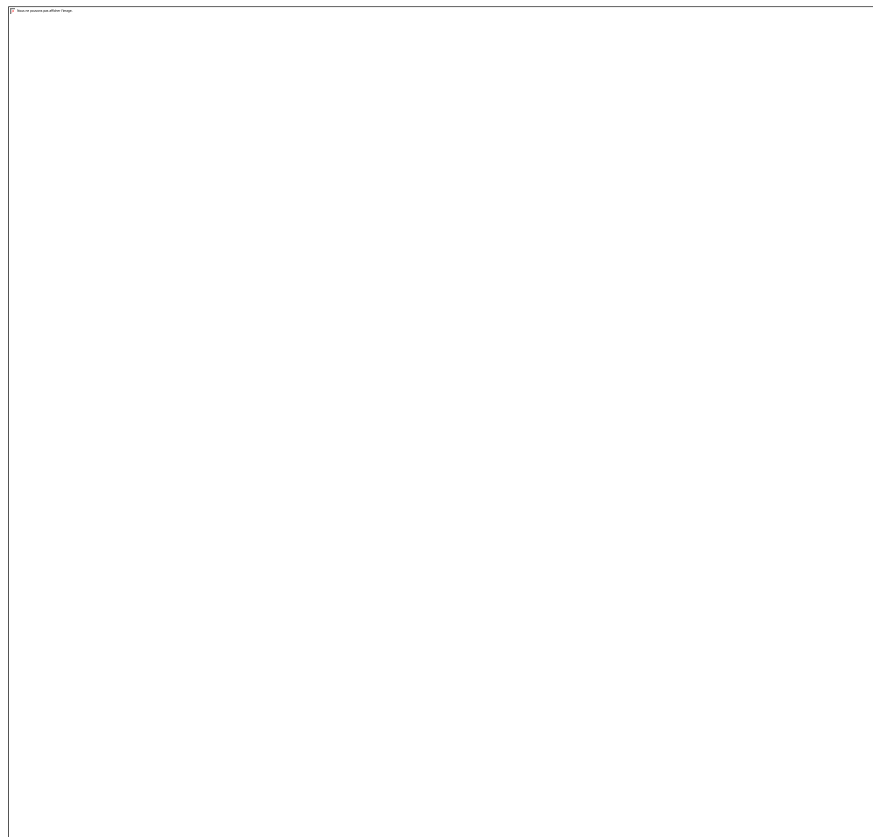
VII. Les anomalies de la fécondation

V- La 1^{ère} division cellulaire

Préparation de la division cellulaire

1. Phase S : N2C (réplication de l'ADN)
2. Phase G2 très courte
3. Prophase
 - *Condensation de la chromatine*
 - *Fuseau mitotique (centriole proximal du spz)*
 - *Disparition des enveloppes nucléaires : SYNGAMIE*
4. MITOSE : 2 blastomères de taille $\neq$





Plan chronologique (2)

III. Activation de l'œuf

- » Réaction corticale
- » Reprise de la méiose
- » Formation des 2 pronoyaux

IV. L'amphimixie

V. La 1^{ère} division cellulaire

VI. Les conséquences de la fécondation

VII. Les anomalies de la fécondation

VI- Les conséquences de la fécondation

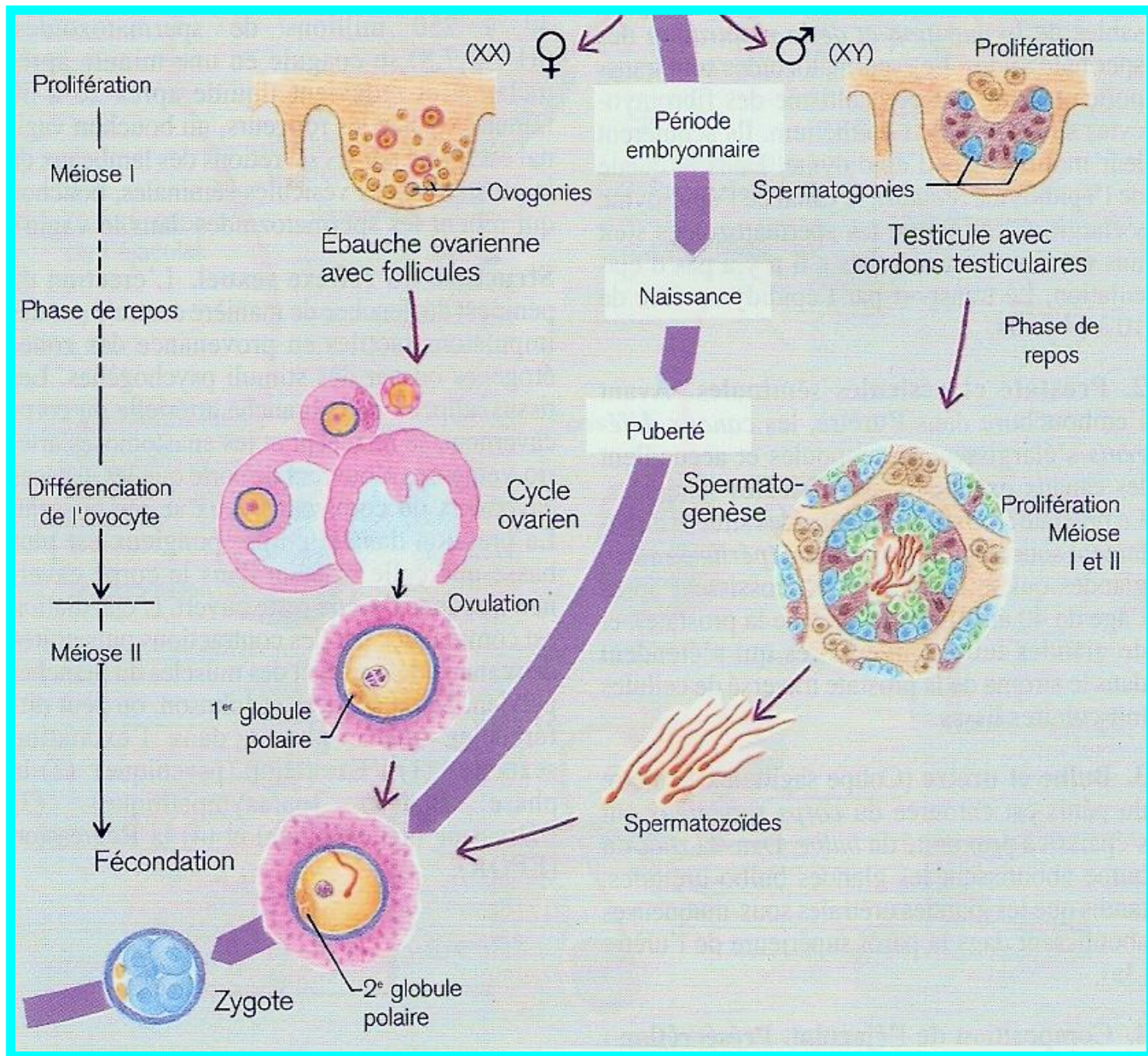
1. Activation de l'ovocyte

- » cytoplasmique: réaction corticale
- » nucléaire: reprise de la méiose

2. Restauration de la diploïdie

3. Déterminisme du sexe génétique

4. Amphimixie, syngamie et première division de l'œuf fécondé ou zygote qui marque la fin de la fécondation



Plan chronologique (2)

III. Activation de l'œuf

- » Réaction corticale
- » Reprise de la méiose
- » Formation des 2 pronoyaux

IV. L'amphimixie

V. La 1^{ère} division cellulaire

VI. Les conséquences de la fécondation

VII. Les anomalies de la fécondation

VI- Les anomalies de la fécondation

1- Les polyploïdies

ex : les triploïdies liées à :

une DIANDRIE (2 spz)

une DIGYNIE (non expulsion du 2^{ème} GP)

5% en FIV

1-2 % in vivo



VI- Les anomalies de la fécondation

2- Les aneuploïdies

anomalies du nombre de chromosomes

- **Trisomie** (ex : syndrome de Down)
- **Monosomie**
- **Anomalies de nombre des chromosomes sexuels**
 - ex : syndrome de Turner (45, XO)
 - ex : syndrome de Klinefelter (47, XXY)

liées à une NON disjonction des chromosomes à la 1ère ou 2ème division de méiose

Non disjonction des chromosomes sexuels

		OVOCYTE		
		23, X	24, XX	22, O
S P E R M A T O	23, X	46, XX	47, XXX	45, XO
	23, Y	46, XY	47, XXY	45, YO
	24, XY	47, XXY	48, XXXY	46, XY
	24, XX	47, XXX	48, XXXX	46, XX
	24, YY	47, XYY	48, XXYY	46, YY
	22, O	45, XO	46, XX	44, OO

VI- Les anomalies de la fécondation

3- Le développement parthénogénétique

- **Le tératome ovarien (2 lots haploïdes féminins)**
Ovocyte non fécondé activé
- **La môle hydatiforme (MH) : grossesse molaire (2 lots haploïdes masculins)**

MH complète : excès de matériel génétique paternel :

→ Ovocyte anucléé fécondé par 1 ou 2 spz

→ Hyperplasie du trophoblaste

MH incomplète : ovocyte normal fécondé par 2 spz ou 1 spz anormal

