

## CHAPITRE 06 : La fécondation

La fécondation est la formation, à partir de la fusion d'un spermatozoïde et d'un ovocyte, d'une cellule souche diploïde et totipotente (zygote) qui sera à l'origine des différents tissus et organes d'un individu de l'espèce.

Deux étapes préparatoires permettent cette fusion :

- – la transformation du spermatozoïde éjaculé qui le rend apte à reconnaître l'enveloppe protectrice de l'ovocyte de son espèce, la zone pellucide 3, et à s'y fixer. Cette transformation est appelée **capacitation** ; elle s'accompagne généralement d'un changement de mobilité des spermatozoïdes qui deviennent « **hyperactifs** » ;
- – la fixation à laquelle fait suite l'exocytose du contenu de l'acrosome, appelée la **réaction acrosomique (RA)**. Le spermatozoïde peut alors franchir la zone pellucide et atteindre la membrane plasmique de l'ovocyte.

Deux étapes constituent la fécondation proprement dite :

- – l'attachement des membranes plasmiques des deux gamètes puis leur **fusion** qui permet au spermatozoïde de pénétrer dans l'ovocyte ;
- – l'**activation** de l'œuf, c'est-à-dire la mise en marche du premier cycle cellulaire qui s'achève par la première division de segmentation.

L'efficacité de rapprochement sexuel relève d'une série de facteurs :

Rapidité de transport du sperme, moment de l'ovulation, durée de survie et de fertilité des cellules germinales.

### 1. Transport spermatique

Le volume spermatique est variable suivant les espèces et lors du rapprochement sexuel normal, le sperme est déposé au niveau de la région vagino-cervicale (ruminants-lapine-macaque) ou dans l'utérus (jument, truie, rate). La remonté spermatique doit donc s'opérer au travers du cervix, de l'utérus, et de l'oviducte jusqu'au niveau de l'ampoule tubaire, en droit de la fertilisation. Le franchissement du col utérin est dû à la fois à la motilité propre des SPZ et aux propriétés rhéologiques de la glaire cervicale, fluide et aqueuse au moment des chaleurs.

Les contractions de l'utérus représentent l'élément majeur de la remonté spermatique à ce niveau.

Divers stimuli favorisent cette contractilité. La résultante de ces divers stimuli consiste dans la libération de l'ocytocine qui est responsable de cette augmentation de l'activité myométriale.

La motilité utérine est également dépendante de l'équilibre hormonal **E2/P4**.

La part d'intervention des mouvements propres des SPZ est assez réduite. Il faut aussi retenir l'activité des cellules ciliées dont l'importance varie suivant les espèces mais qui n'est nullement négligeable chez les volailles.

Le franchissement de la jonction utéro-tubaire relève des mouvements péristaltiques et antipéristaltique de l'utérus, de la motilité des SPZ, des contractions des cryptes de l'oviducte, des courants liquides créés par les contractions musculaires et les mouvements ciliaires.

Le temps nécessaire au SPZ pour atteindre l'ampoule tubaire serait de 15 min chez la souris, de moindre durée chez la rate, de 2 min à quelques heures chez la chienne, de quelques min à quelques heures chez la brebis ; chez la truie, la durée de remonté spermatique varie suivant le moment de la période œstrale. La jonction utéro-tubaire peut même être atteinte avant que l'accouplement ne soit terminé

La vitesse d'ascension spermatique est diversement appréciée chez la vache (quelques minutes à plusieurs heures). Il semble qu'il faille au moins deux heures pour que soit atteinte la jonction isthmo-ampulaire.

Le temps de migration des SPZ dans l'oviducte de volailles est du même ordre de grandeur que celui constaté chez la plupart des mammifères.

## 2. Capacitation

Le sperme fraîchement éjaculé ne peut pénétrer l'ovocyte ; il n'acquiert cette propriété qu'après un certain séjour dans les voies génitales femelles. Cette maturation spermatique est appelée capacitation ; le temps requis pour sa réalisation est variable suivants les espèces : 1heure chez la souris, 2 à 6 heures chez le rat et le lapin, 1H30 à 3 heures chez le mouton et le porc, 2 à 4heures chez le hamster.

Le pourcentage de fécondation diminue chez la vache si l'insémination est réalisée moins de 6 heures avant l'ovulation.

Cette nécessité de la capacitation explique que le rapprochement sexuel doit toujours précéder le moment de l'ovulation.

Il semble que la fixation à la muqueuse tubaire facilite cette capacitation, qui en tout cas ne pourrait pas se faire en présence de liquide séminal (facteurs de décapacitation). Le mécanisme exact de la capacitation semble procéder à la fois de l'élimination du facteur chimique de « décapacitation » présent au niveau des liquides séminaux et de modifications morphologiques de l'acrosome.

La capacitation et la réaction acrosomique vont de pair avec l'augmentation de l'activité métabolique du spermatozoïde.

### Nature de la capacitation

Elle consiste en des modifications de la membrane plasmique :

- nouvelle répartition des protéines membranaires, moins homogène;
- relargage de protéines superficielles;
- élimination de radicaux glucidiques;
- phosphorylation de certaines protéines
- modification de la composition lipidique (élimination d'une partie du cholestérol libre);
- réduction des charges négatives.

### Facteurs de capacitation

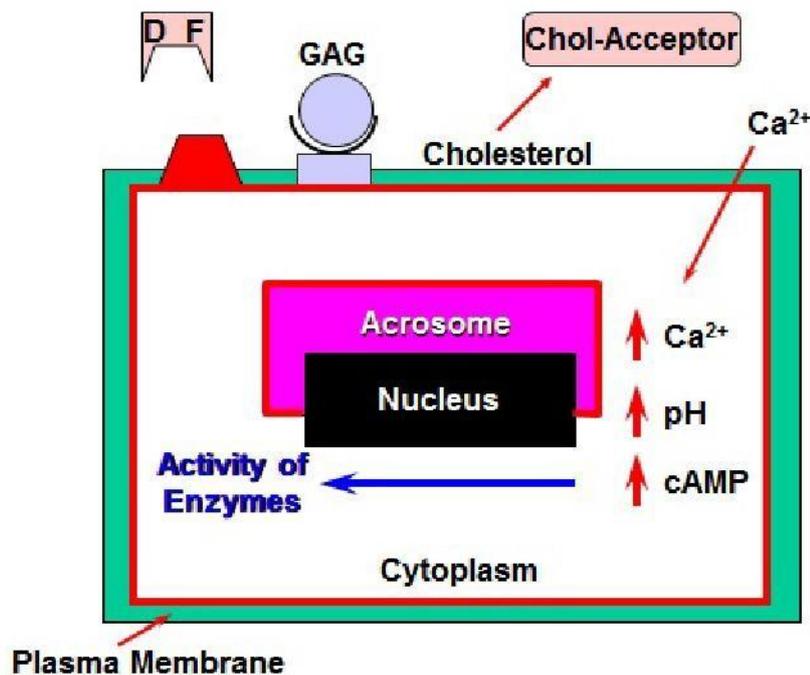
De nombreuses substances du liquide tubaire sont capables d'induire la capacitation :

- ✓ albumine et lipoprotéines : élimination du cholestérol libre;
- ✓ glycosaminoglycanes (GAG): relargage des protéines de revêtement;
- ✓ neuraminidase et glycuronidase : excision des groupements glucidiques;
- ✓ stéroïdes;
- ✓ lipides.

### Conséquences de la capacitation

Ces modifications membranaires permettront la poursuite des événements préalables à la fécondation :

- ✓ préparation à la réaction acrosomique;
- ✓ libération des sites protéiques membranaires de reconnaissance de la zone pellucide et de la membrane ovocytaire;
- ✓ hypermobilité des spermatozoïdes, par augmentation de l'amplitude du mouvement flagellaire, utile à la traversée de la zone pellucide;
- ✓ augmentation concomitante de l'activité respiratoire.



**Figure 01:** Changements métaboliques durant la capacitation

### 3. Variabilité et durée de la capacité fertilisante des spermatozoïdes

Chez la vache, la durée de fertilisation du gamète mâle serait d'environ 24H, la fertilité est optimum lors de saillie ou d'insémination artificielle réalisée 13 à 19h avant l'ovulation (85%).

Le nombre de SPZ atteignant l'endroit de fertilisation est extrêmement faible par rapport à

leur nombre dans l'éjaculat. Ce phénomène a, entre autre effets, de prévenir la possibilité de polyspermie et dès lors d'un développement anormal de l'œuf.

Pour assurer une bonne fécondation chez les femelles domestiques, il faille s'en tenir à 24h comme durée moyenne de maintien de la capacité fertilisante du sperme dans les voies génitales femelles (de 30 h chez la vache et la brebis, de 24 à 48h chez la truie, de 144h chez la jument).

La sénescence des SPZ, tout en conservant en partie leur aptitude fertilisante, conduit assez fréquemment à la production d'embryons anormaux ou peu viables (fait observé aussi chez les volailles).

Chez les chauves-souris, la survie de SPZ durant une année dans des cryptes de la muqueuse où ils sont entourés par une couche de sécrétion les protégeant et les nourrissant a été décrite.

#### **4. Migration de l'ovocyte**

L'oviducte représente l'endroit de fécondation de l'ovule et il assure le transport de l'œuf jusqu'à l'utérus où aura lieu l'implantation.

Au moment de l'ovulation, le pavillon frangé (infundibulum), congestionné et contractile, s'applique contre l'ovaire et capte le ou les ovocytes ; ceux-ci sont entraînés par les mouvements ciliaires de l'épithélium vers l'entrée de la trompe où ils s'enfoncent rapidement. Leur progression se poursuit sous l'action des battements de l'épithélium cilié et des mouvements du liquide tubaire soumis aux contractions péristaltiques de la couche musculaire longitudinale associées aux contraction segmentaires des couches musculaires circulaires ; cette progression est arrêté à la jonction isthmo-ampulaire qui agit davantage comme un sphincter physiologique qu'anatomique ; c'est au niveau de l'ampoule que se produira la fécondation. En cet endroit, le liquide salpingien est particulièrement riche en phosphatase acide, laquelle intervient dans l'élimination de la corona radiata et la dénudation de l'ovule chez la vache, la brebis, la chèvre et la truie. Dans ces espèces, le SPZ ne devra donc traversé que la zone pellucide pour assurer la fécondation.

La durée de fertilisation de l'ovule est relativement brève : 6 à 8h chez la lapine, 15 à 24h chez la brebis, 6 à 18h chez la vache et la jument. Le retard de fertilisation conduit à la polyspermie et au développement embryonnaire anormal. Les ovules non fertilisés ou les œufs dégénérés disparaissent par phagocytose excepté chez la jument chez laquelle ils peuvent restés plusieurs mois dans les trompes de Fallope.

Chez la plupart des ongulés, la traversée tubaire s'effectue en 3 à 4 jours. Elle est plus longue chez les carnivores : 8 à 10 jours chez la chienne, 6 jours chez la chatte.

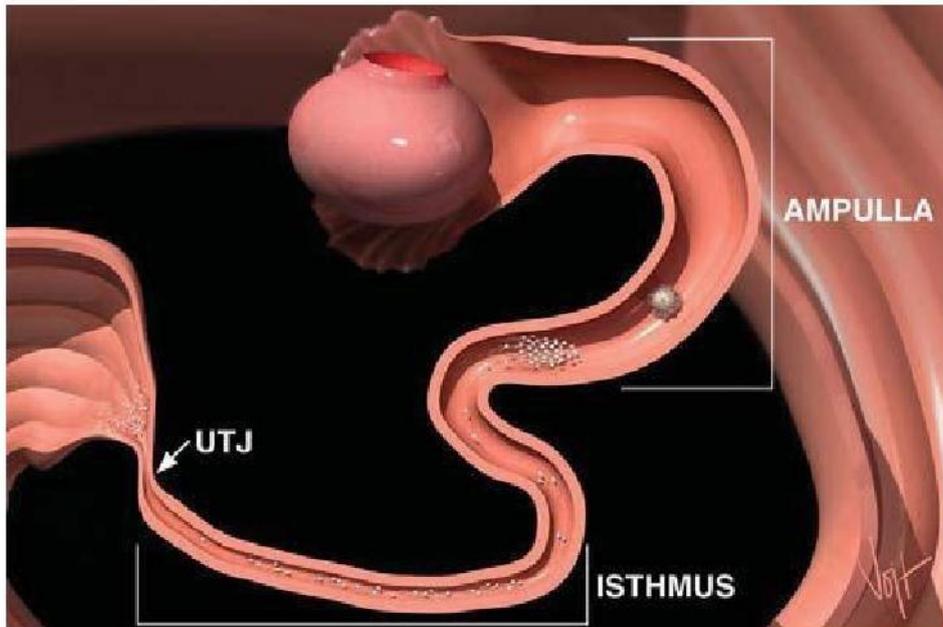


Figure 02 : Migration tubaire des gamètes

## 5. Fertilisation

La fertilisation est la pénétration du gamète femelle par le gamète mâle pour former une seule cellule, le zygote, dont le développement ultérieur doit conduire à l'embryon.

Le processus de fertilisation comporte deux aspects : mécanique et génétique

En pénétrant mécaniquement dans l'ovule, le SPZ incite ce dernier à se diviser et à se développer embryologiquement ; génétiquement la fertilisation a pour effet d'introduire dans l'ovule le matériel héréditaire du mâle.

La fécondation comporte trois phases essentielles, à savoir :

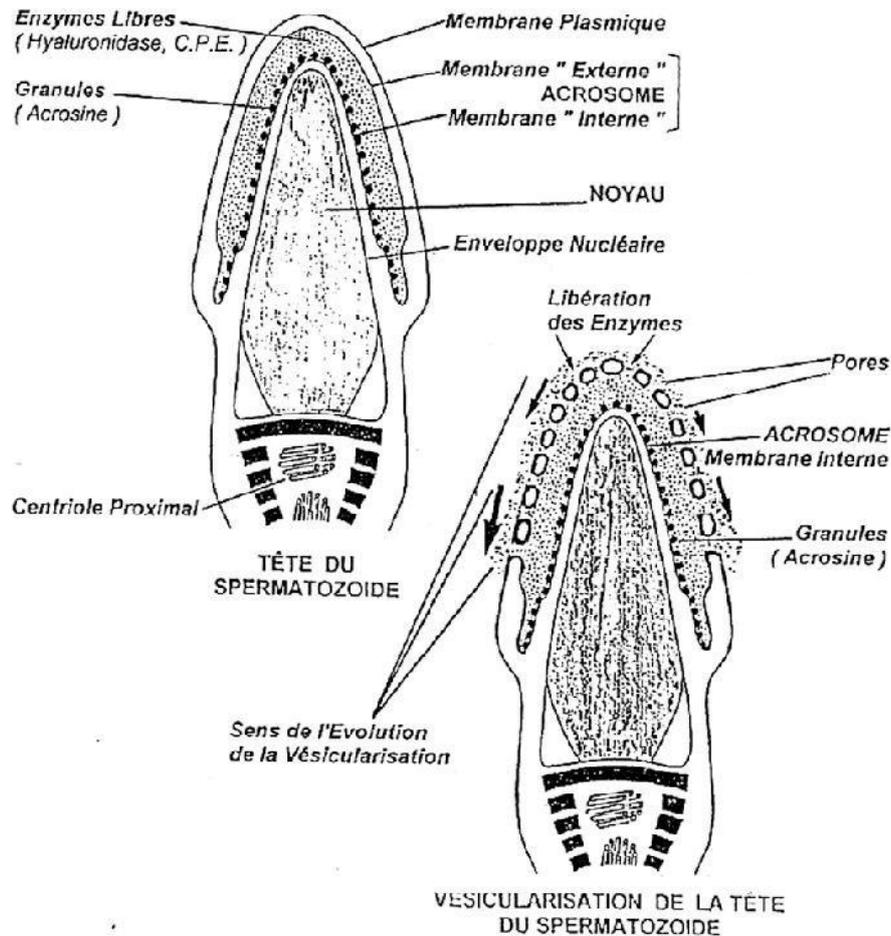
- a- La pénétration du SPZ dans l'ovule suivie des réactions de ce dernier
- b- L'activation de l'ovule
- c- La fusion du noyau des deux gamètes (amphimixie)

Chez la plupart des mammifères, la fécondation a lieu après l'expulsion du 1<sup>er</sup> globule polaire de sorte que la pénétration du SPZ a lieu au moment de la seconde mitose de maturation.

Chez le cheval et le chien, la pénétration spermatique peut survenir avant que ne débute cette seconde mitose. Ces espèces libèrent lors de l'ovulation des ovocytes qui n'ont pas encore terminé leur 1<sup>ère</sup> division méiotique, celle-ci ne s'achevant que dans les voies génitales.

Au moment de la rencontre gamétique, l'ovocyte est, dans beaucoup d'espèces, entouré des cellules de la corona radiata. Chez certaines telles la vache, la brebis et la truie, ces cellules se sont déjà désagrégées si bien que l'ovocyte est dénudé et le SPZ n'a qu'à franchir la zone pellucide. Cette pénétration sur la mobilité propre du spermatozoïde et sur l'intervention de divers processus enzymatiques.

Suite à l'élimination du facteur de décapacitation et en présence de  $Ca^{++}$ , survient la **réaction de l'acrosome** qui aboutit à la libération et à l'activation d'enzymes de l'acrosome telles que l'acrosine et une enzyme analogue à la neuraminidase qui vont permettre la pénétration de la corona radiata et de la zone pellucide. Cette modification de la membrane acrosomique se produit en plusieurs étapes : vésicularisation, apparition de pertuis et finalement disparition de la membrane. Par conséquent, c'est la membrane interne de l'acrosome qui limite la tête spermatique, sauf dans son 1/3 postérieur, c'est-à-dire au niveau du segment équatorial et de la cape post-acrosomiale, où la membrane plasmique reste intacte.



**Figure 03:** Modification de la membrane acrosomique

La fixation est assurée par une liaison entre des molécules membranaires de galactosyltransférase regroupées à l'apex du spermatozoïde et la partie glucidique de ZP3.

- La réaction acrosomique débute avec la liaison entre une protéine membranaire spermatique, qui pourrait être la protéine sp95, et la partie peptidique de Zp3.
- L'ancrage du spermatozoïde est assuré par la liaison entre ZP2 et des protéines de la famille des CAM (Cell Adhesion Molecules), en particulier la protéine PH-20, qui se trouvent sur la membrane de l'acrosome.

La zone pellucide constitue une barrière interspécifique. Les spermatozoïdes ne reconnaissent que la zone pellucide de la même espèce, ou à la rigueur d'une espèce voisine.

La pénétration dans la zone pellucide implique des protéases :

Hyaluronidase : détruit l'acide hyaluronique qui occupe les mailles de la ZP

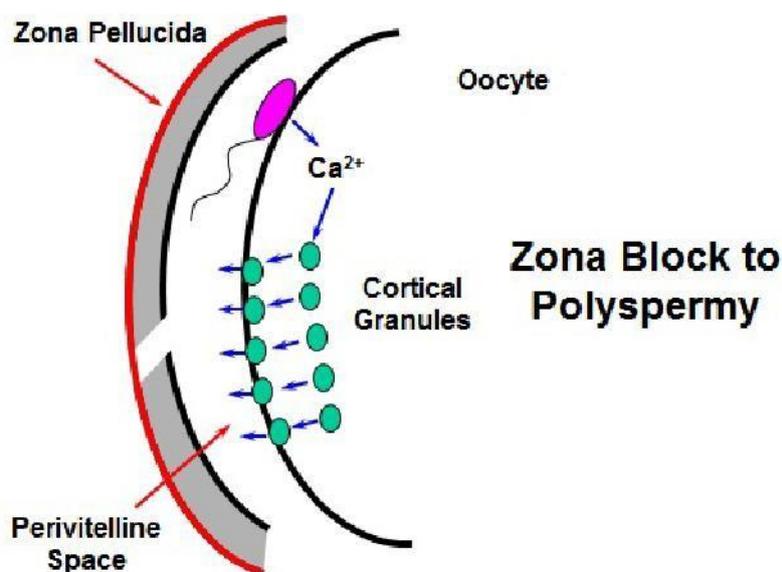
$\beta$ -N-acétylglucosamine : hydrolyse la ZP2, fragilise la ZP

L'acrosine : sérine protéase, rompt les pontages entre la ZP1 et la ZP2-ZP3

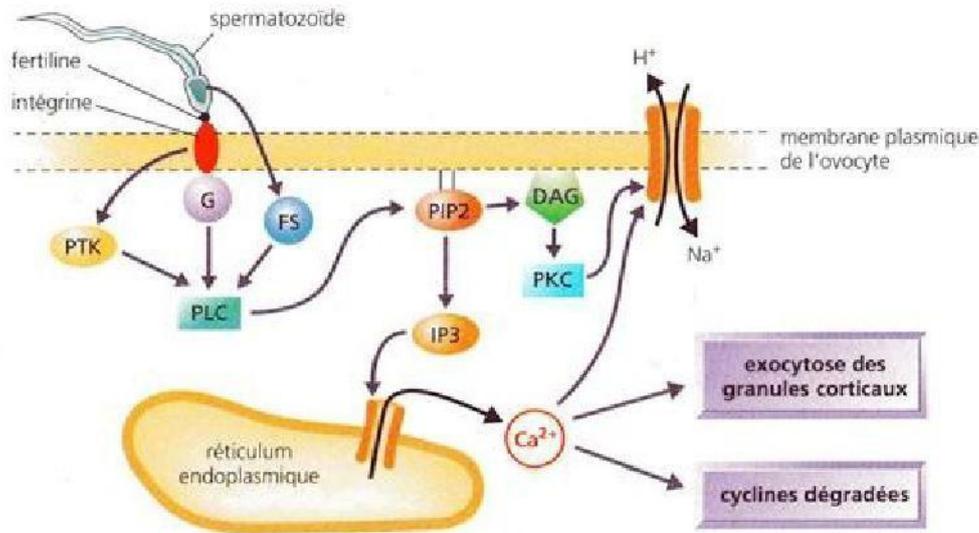
Une fois la tunellisation de la zone pellucide achevée, le SPZ arrive dans l'espace péri-ovulaire où il se trouve arrêté par les microvillosités qui couvrent la surface de l'ovule. Dès que le contact est établi, il s'établit une fusion de la membrane ovulaire et la membrane post-acrosomique suivie d'une pénétration progressive du SPZ dans l'ovule. Dès ce moment, les granules sous corticaux de l'ovule disparaissent (réaction corticale, premier bloc à la polyspermie).

Au cours de réaction corticale des granules corticaux de l'ovocyte, organites riches en enzymes, déversent leur contenu enzymatique dans l'espace périvitellin. Les enzymes diffusent alors vers la zone pellucide et y modifient les glycoprotéines ZP3, probablement en modifiant spécifiquement les O-oligosaccharides, ce qui les rend incapable de fixer de nouveaux spermatozoïdes.

Plusieurs types de protéines sont exocytées. En premier lieu des protéases qui digèrent certains éléments de la membrane pellucide. Chez les mammifères, la ZP2 est digérée empêchant tout maintien des spermatozoïdes à sa surface. En amont, une N-acétylglucosaminase clive les résidus glucidiques de la ZP3 empêchant toute fixation de spermatozoïdes intacts. Puis, des mucopolysaccharides produisent un gradient osmotique en faveur d'une entrée d'eau massive entre les deux membranes. Il s'ensuit un décollement de la membrane pellucide qui progresse à partir du point d'entrée du spermatozoïde et donne naissance à la membrane de fécondation. Ce mécanisme est visible au microscope et constitue un critère très fiable de succès de la fécondation *in vitro*. Enfin, une peroxydase catalyse la formation de ponts entre les résidus "tyrosine" des protéines de la membrane et provoque son durcissement qui s'oppose à l'entrée de nouveaux spermatozoïdes.



**Figure 04** : Représentation schématique de la zone pellucide et de l'ovocyte; illustration de la réaction corticale empêchant la polyspermie



**Figure 05 :** Changements liés aux oscillations calciques

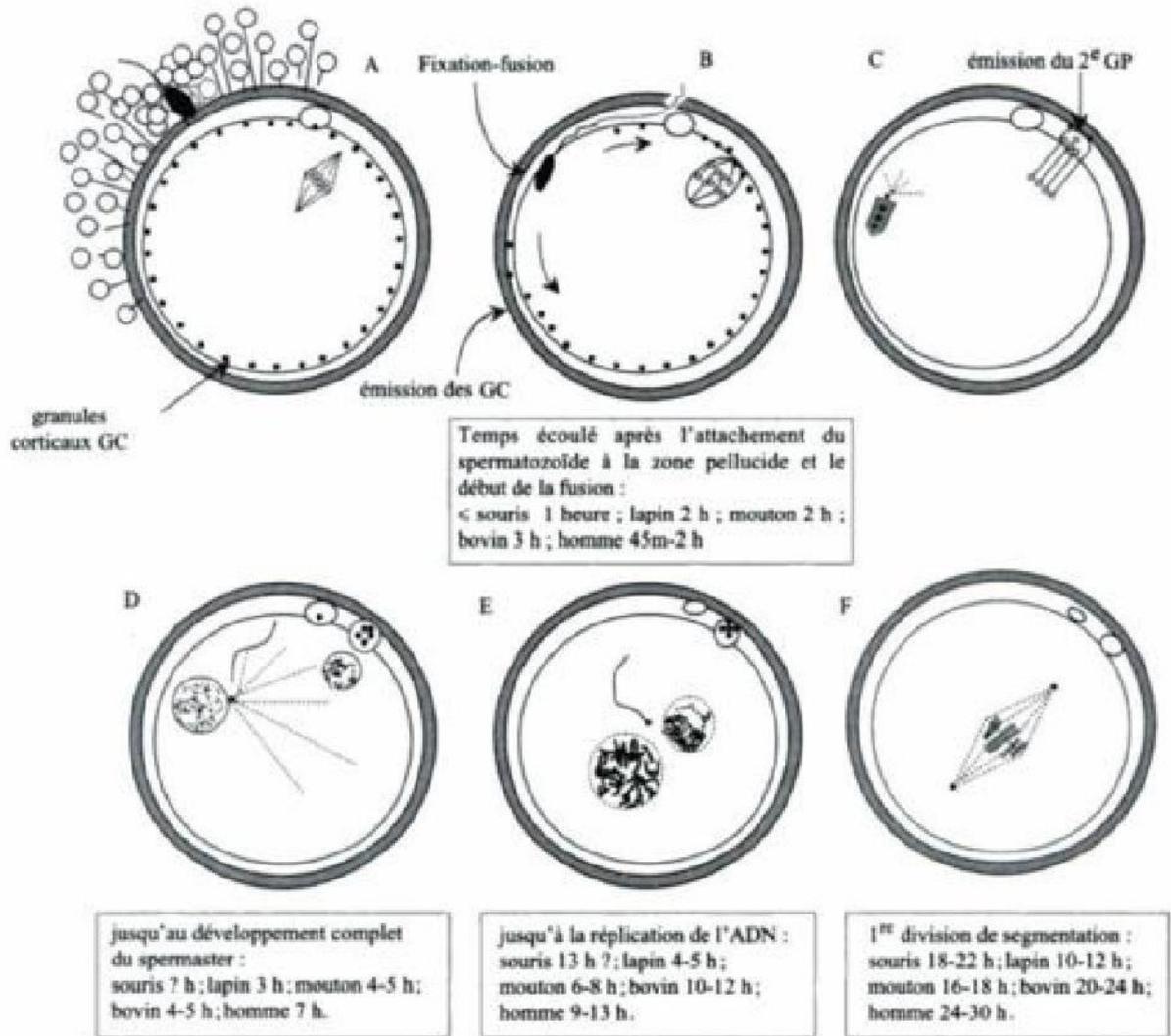
La pénétration spermatique réactive la maturation de l'œuf et permet l'expulsion du 2<sup>ème</sup> globule polaire. Dans certaines espèces, notamment la vache et la truie, le vitellus se réduit de volume par suite du passage de sa phase liquide dans l'espace périvitellin. Dès sa pénétration le noyau du SPZ privilégié se tuméfie, subit la coalescence tandis qu'apparaissent des nucléoles et que se développe une membrane nucléaire. Ces transformations conduisent à une structure finale, très apparentée au noyau des cellules somatiques dénommée pronucléus paternel. La formation de pronucléus maternel s'établit selon un processus sensiblement identique.

Les deux pronucléi se développent de façon synchrone et augmentent de volume en l'espace de quelques heures. Ils se résolvent, finalement, en deux masses chromosomiques qui vont se répartir autour de la plaque équatoriale pour former une masse unique qui représente la prophase de la 1<sup>ère</sup> mitose.

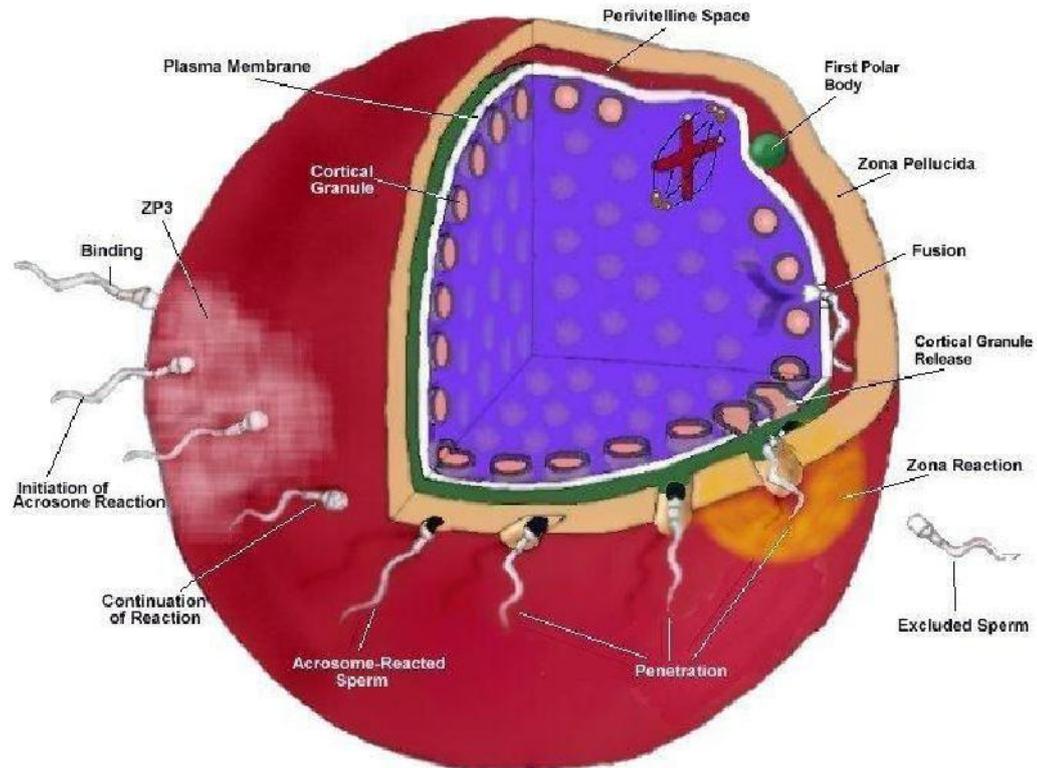
L'amphimixie correspond au mélange intime de substances nucléaires parentales dans lequel les deux noyaux gamétiques interviennent de façon symétrique et équivalente.

Sur le plan métabolique, on observe suite à l'élévation de calcium intracellulaire une activation de la NAD kinase qui catalyse la formation du NADP. Cette co-enzyme est indispensable au métabolisme des lipides et anticipe les importants besoins en phospholipides membranaires.

Dans les premières heures, la synthèse protéique est assurée par la traduction qui se fait à partir d'ARNs messagers stockés dans l'ovocyte, puis le relais est pris par des ARN issus de la transcription du génome zygotique.



**Figure 06 : Les étapes de la fertilisation**



© 1997 Oklahoma State University

Figure 07 : Déroulement de la fertilisation