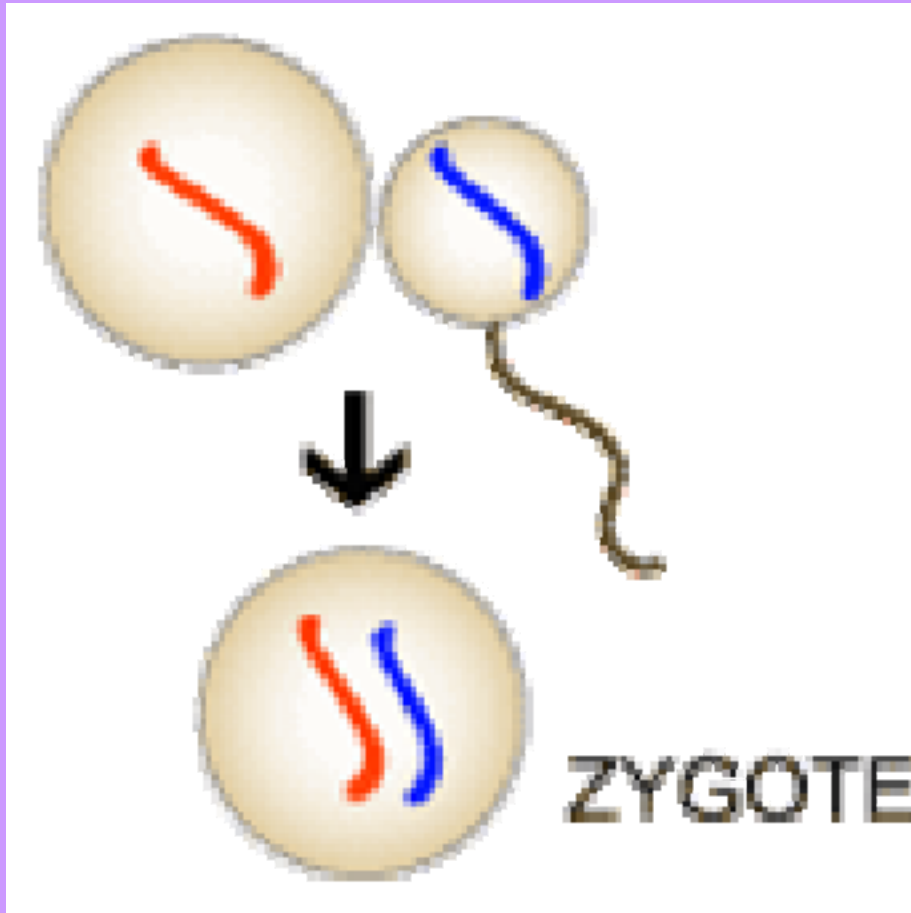
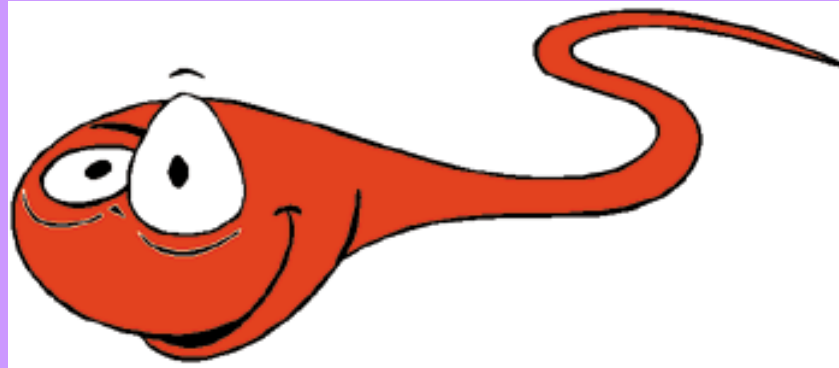


# La fecondazione



[www.fisiokinesiterapia.biz](http://www.fisiokinesiterapia.biz)

# Siti utili



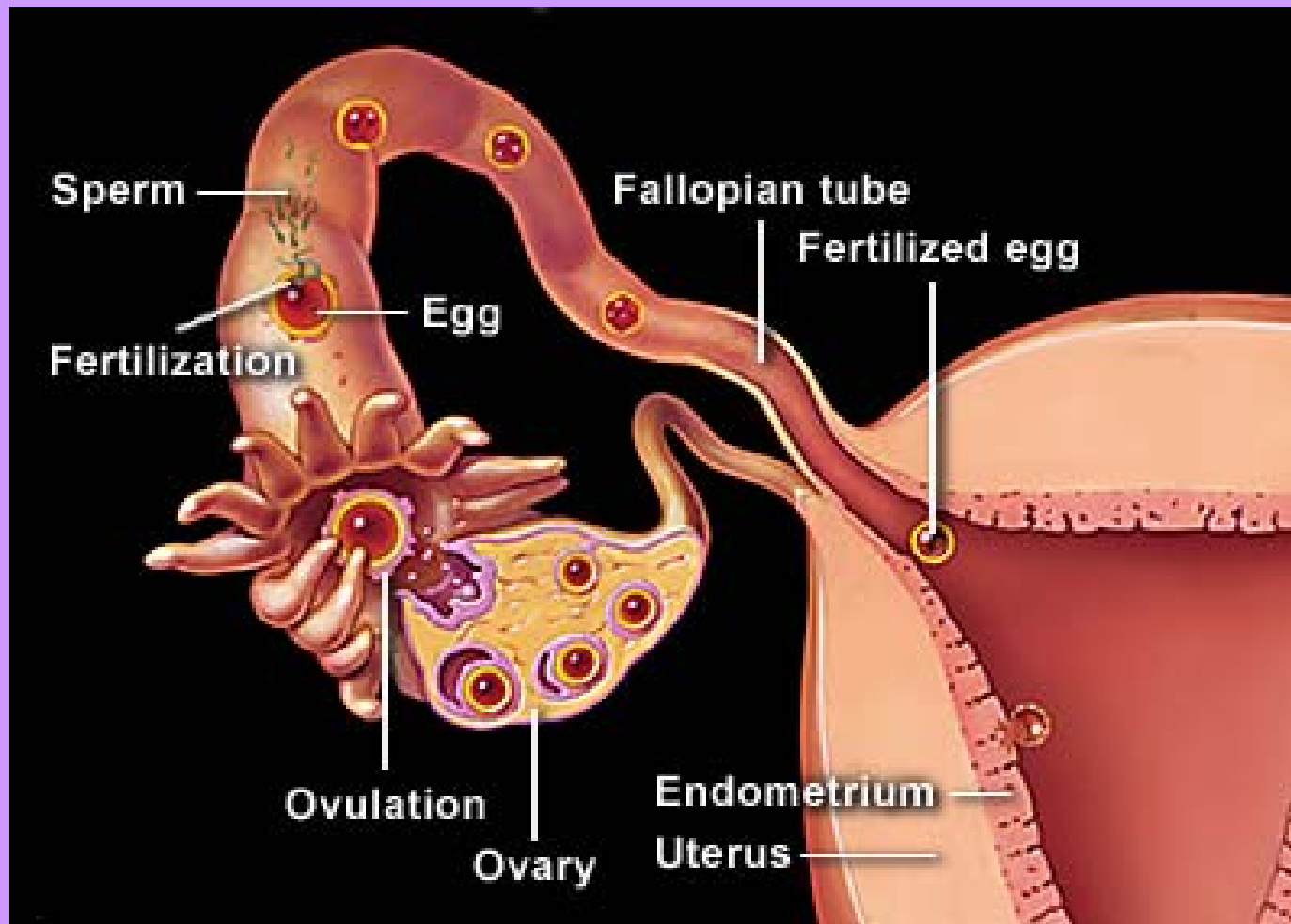
<http://arbl.cvmbs.colostate.edu/hbooks/pathphys/reprod/fert/index.html>

[http://worms.zoology.wisc.edu/frogs/fert/fert\\_intro.html](http://worms.zoology.wisc.edu/frogs/fert/fert_intro.html)

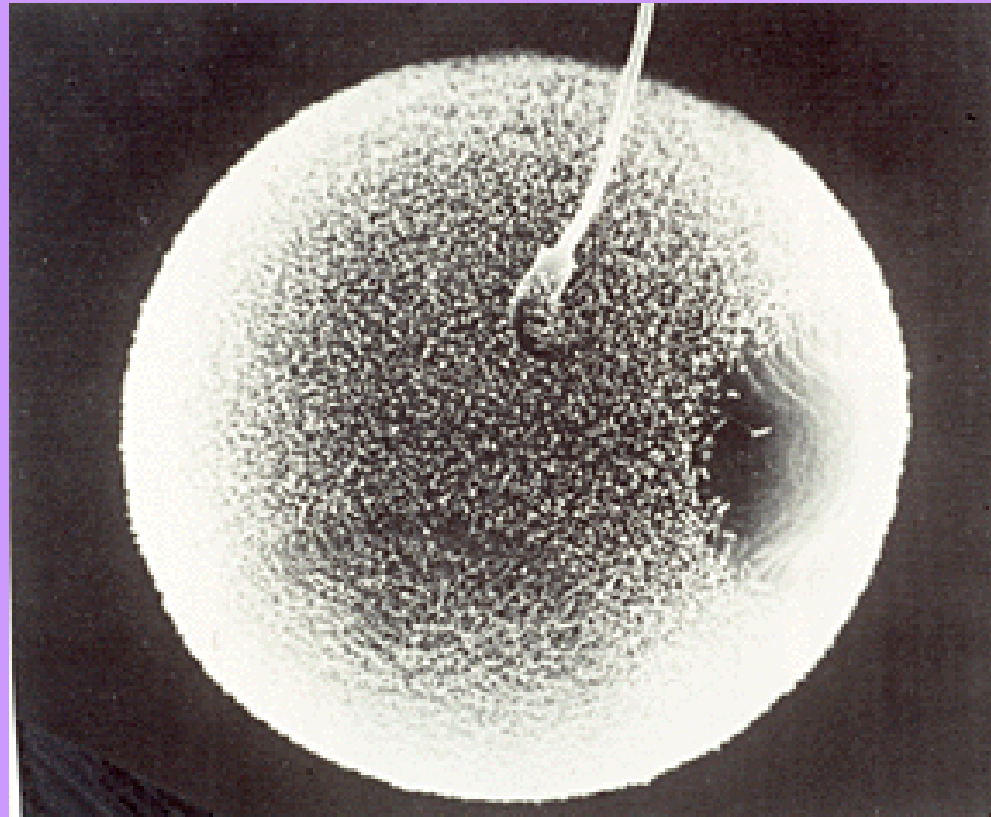
[http://www.centrogenesis.it/atatlante\\_index.htm](http://www.centrogenesis.it/atatlante_index.htm)

# Dove si verifica

Negli organismi acquatici la fecondazione è ESTERNA. Noi abbiamo conservato la necessità che i gameti si incontrino in un mezzo acquoso.



I gameti devono essere entrambi maturi e ben differenziati



# Ostacoli, ostacoli...

Tipicamente, meno dell'1% degli spermatozoi eiaculati raggiunge gli ovidotti. Si ha quindi una elevata *competizione* tra gli spermatozoi.

Infatti, l'ambiente vaginale è ostile (pH acido, presenza di macrofagi...). Gli spermatozoi si difendono grazie all'iniziale coagulazione del seme, che li protegge in attesa che il pH vaginale sia leggermente tamponato. Il coagulo viene sciolto grazie all'azione di proteasi.

A livello della cervice (collo dell'utero) si trovano numerose cripte epiteliali, in cui gli spermatozoi possono venire intrappolati.

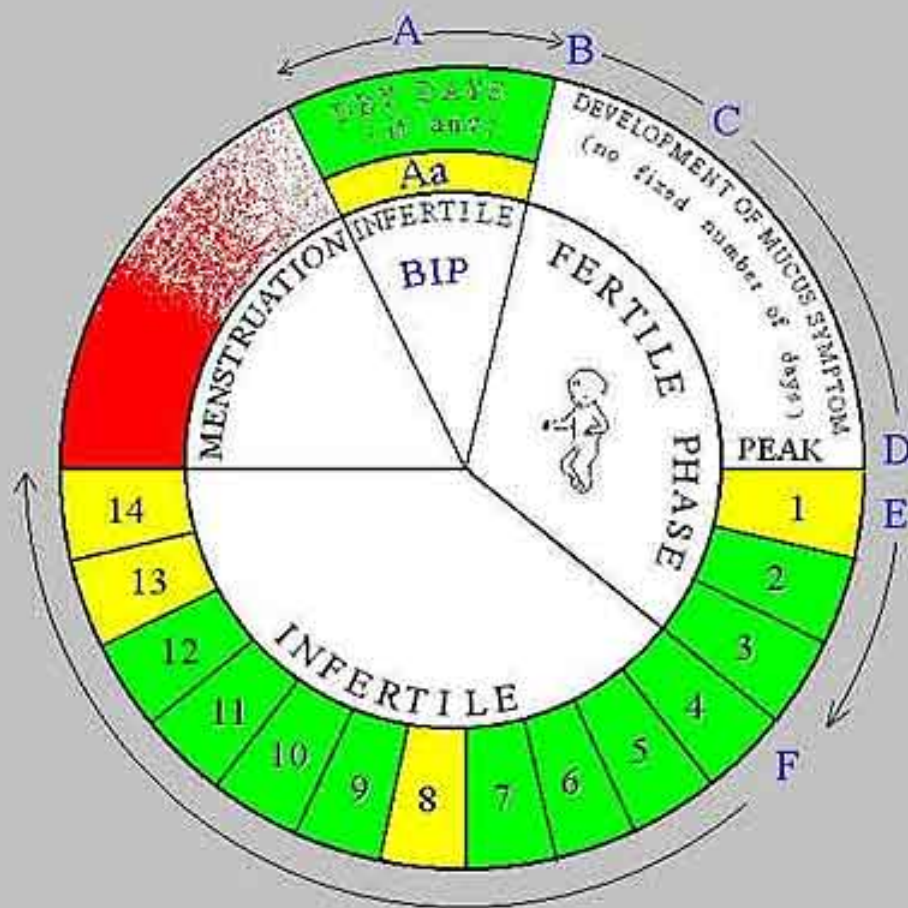
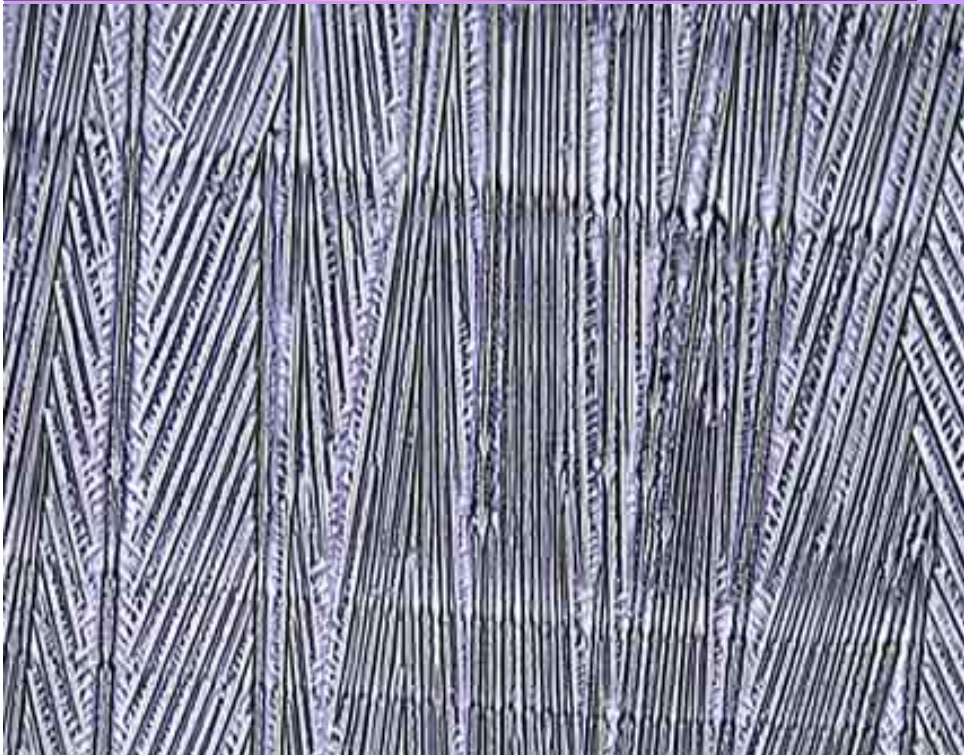
Il muco cervicale cambia notevolmente nel corso del ciclo mestruale; costituisce un ostacolo insormontabile in fase luteinica, quando l'ovocita non è più fecondabile comunque.

# ostacoli....

Nel periodo pre-ovulatorio, l'alto livello di estrogeni e il livello modesto di progesterone rendono il muco cervicale fluido e i filamenti di mucina si dispongono parallelamente, facilitando l'ingresso degli spermatozoi nella cavità. In attesa del periodo favorevole, gli spermatozoi possono trovare "ospitalità" nelle cripte cervicali e trarre nutrimento dal muco. Sembra che possano sopravvivere fino a 48 ore...

Nell'utero

# Il metodo del muco cervicale per determinare i giorni fertili



# ostacoli, ostacoli...

La cavità uterina non rappresenta di per sé un ostacolo per la risalita degli spermatozoi; in genere la motilità della muscolatura (prostaglandine, movimenti peristaltici, ecc.) favorisce la risalita; si tratta pur sempre di un percorso lunghissimo per lo spermatozoo, che, pur non utilizzando ancora il flagello, esaurisce rapidamente le energie disponibili.

Pare che gli spermatozoi non si distribuiscano casualmente tra le due tube, ma che una notevole percentuale si diriga verso la tuba uterina corrispondente all'ovaio in cui si è avuta la maturazione dell'ovocita (fertilizine?).

La giunzione utero-tubarica rappresenta comunque un passaggio difficile.

Alla fine, meno di 100 spermatozoi raggiungerà l'ovocita (1/5000000).



# Perché?

Alla fine, meno di 100 spermatozoi raggiungerà l'ovocita (circa 1/5 milioni).

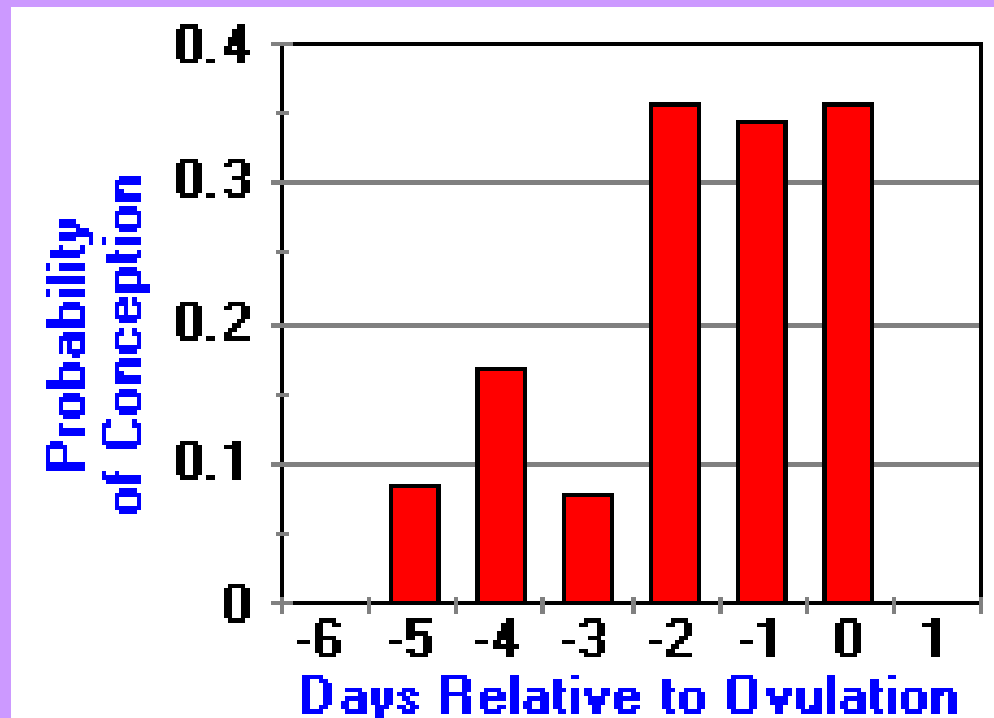
Una selezione incredibile!



E la selezione è probabilmente la ragione di tutti questi ostacoli. La sopravvivenza dei gameti è limitata. L'ovocita, in particolare, sopravvive meno di 24 ore (forse 12) dall'ovulazione, mentre lo spermatozoo può sopravvivere fino a 6 giorni.

# Sopravvivenza dei gameti

Studio eseguito su 221 donne inglesi che hanno avuto 1 solo rapporto (non protetto) nel periodo periovulatorio



# Intanto l'ovocita....

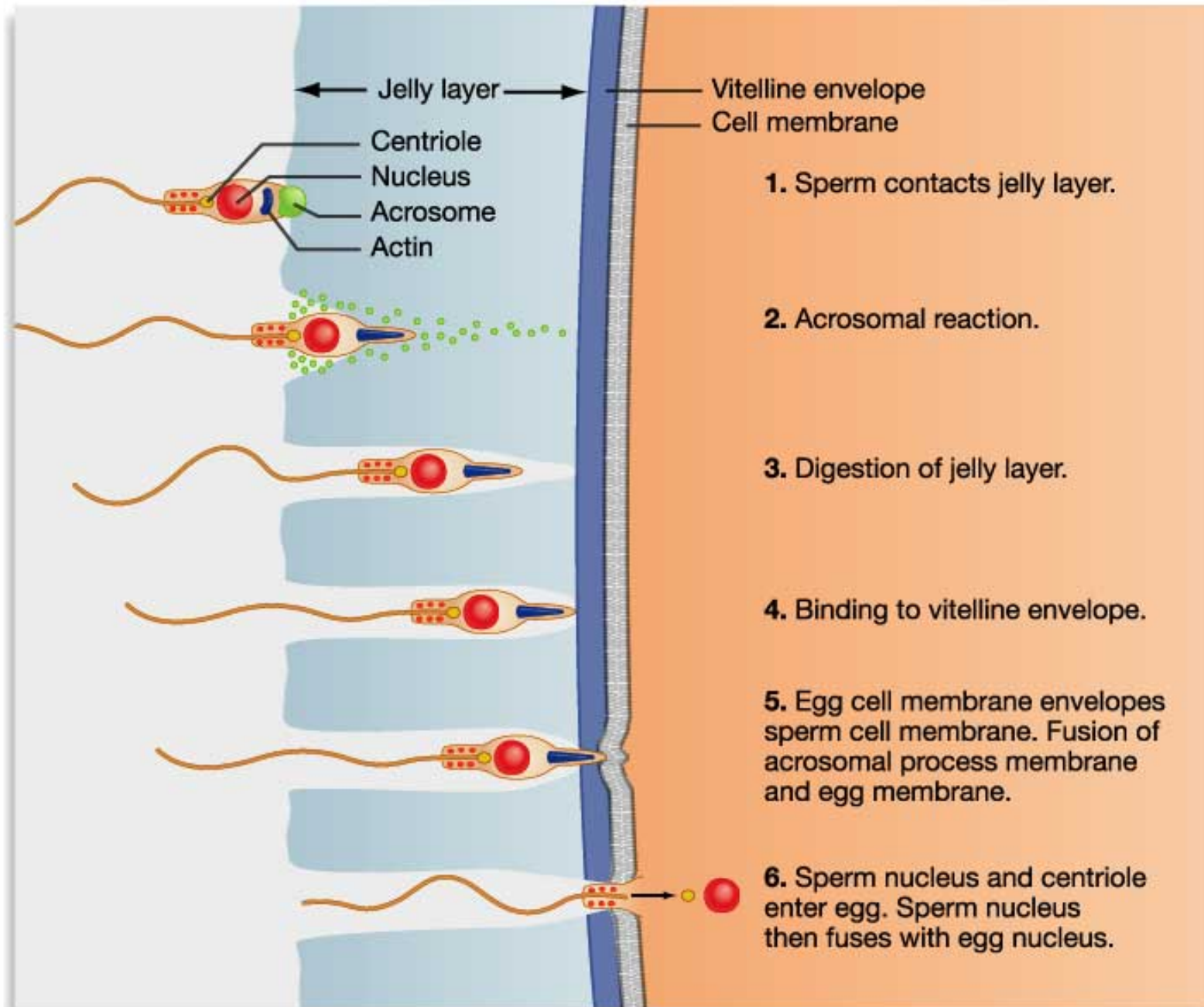
L'ovocita discende lungo le tube trasportato dalle cilia dell'epitelio tubarico. L'ambiente tubarico è ideale sia per la fecondazione sia per i primissimi stadi di sviluppo dello zigote.



# Gli eventi della fecondazione

Una volta che i due gameti si sono incontrati nell'ambiente tubarico, la fecondazione richiede una serie ordinata di eventi:

1. Capacitazione dello spermatozoo
2. Penetrazione attraverso le cellule del cumulo ooforo
3. Legame dello spermatozoo alla zona pellucida
4. Reazione acrosomiale
5. Penetrazione nella zona pellucida
6. Legame alla membrana dell'ovocita
7. Attivazione dell'ovocita e reazione corticale
8. Reazione della zona pellucida
9. Eventi successivi alla fecondazione

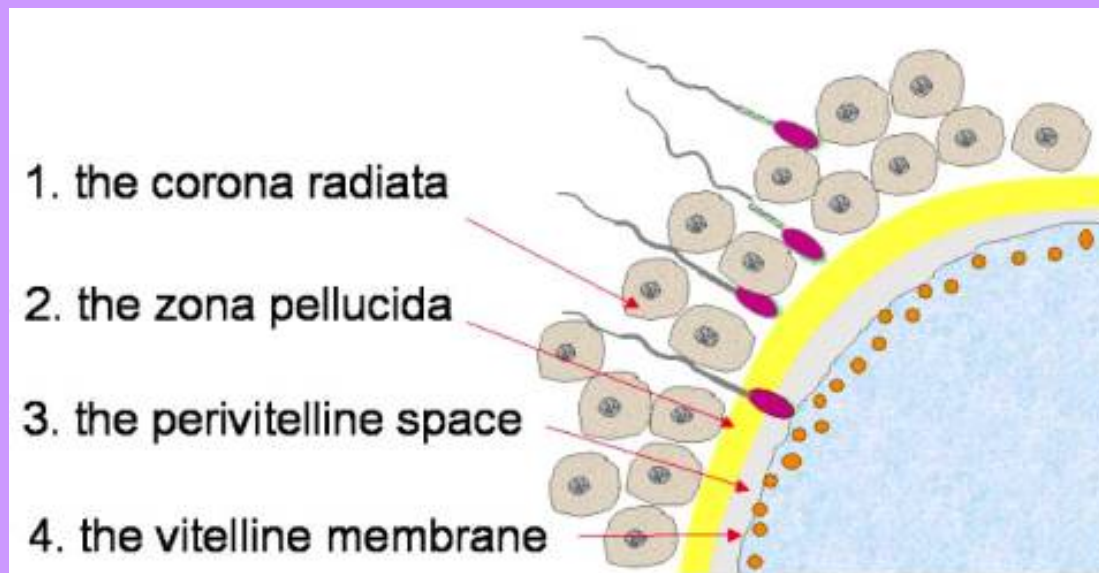


# 1- Capacitazione dello spermatozoo

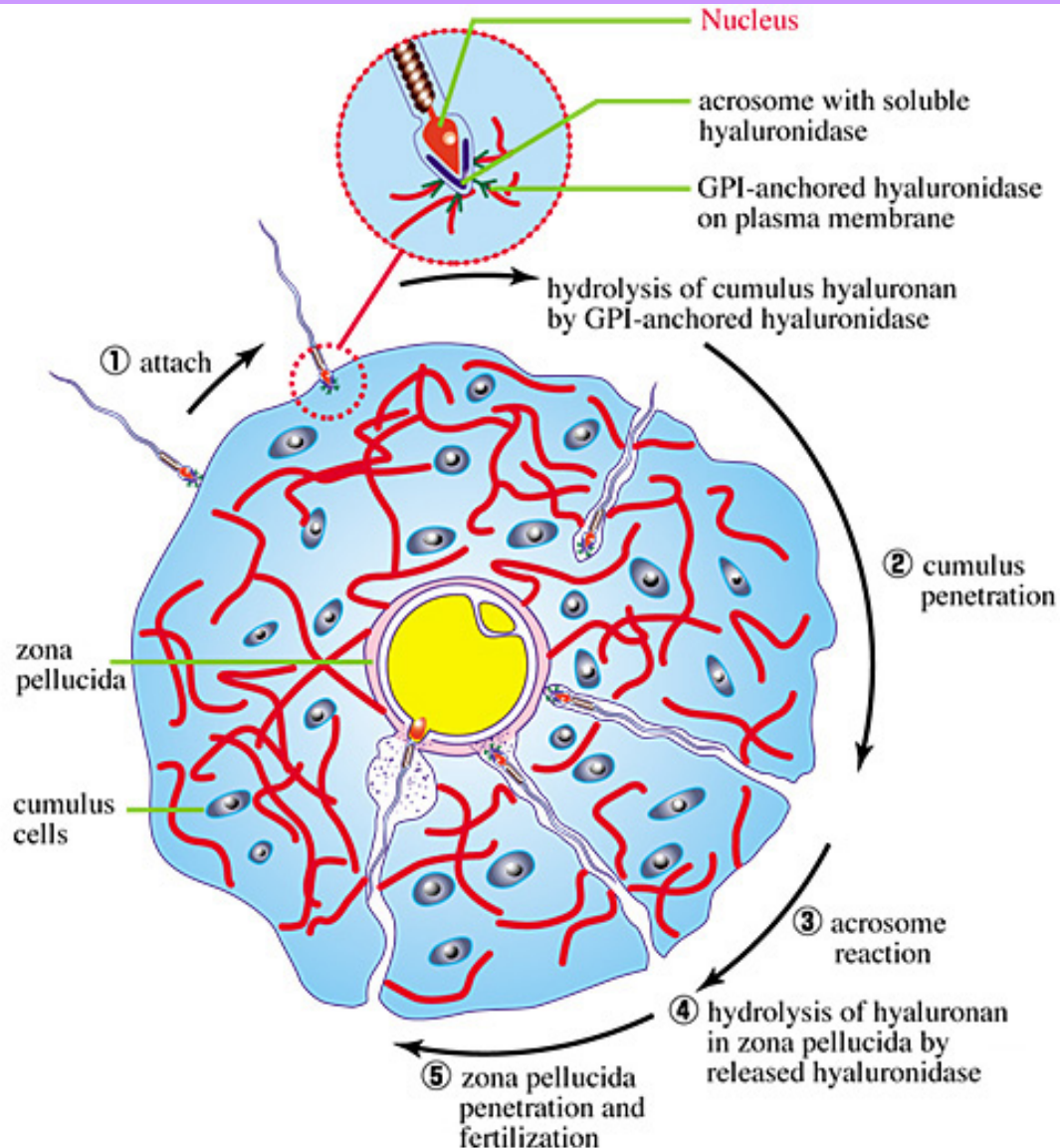
La capacitazione si verifica spontaneamente dopo una permanenza di alcune ore nelle vie genitali femminili.

Si ritiene che dipenda sia dalla rimozione di alcuni gruppi glucidici dalle proteine di membrana, sia dalla rimozione o demolizione di altre proteine, sia dal legame con proteine che destabilizzano la membrana, legandosi ai fosfolipidi e facilitando la sottrazione di colesterolo dalla membrana stessa.

Gli spermatozoi decapacitati assumono una *motilità iperattivata*.



## 2- Penetrazione attraverso le cellule del cumulo ooforo



Gli spermatozoi si devono far strada tra le cellule della corona radiata, che sono relativamente poco compattate.

Alcuni spermatozoi hanno una reazione acrosomiale anticipata, con liberazione di ialuronidasi, che favorisce la disaggregazione delle cellule del cumulo. Tali spermatozoi non riusciranno però a penetrare nella zona pellucida.

### 3- Legame dello spermatozoo alla zona pellucida

Gli spermatozoi incontrano poi la zona pellucida, costituita da carboidrati. Il legame è mediato da proteine di adesione di tipo lectinico e comporta un riconoscimento specie-specifico.

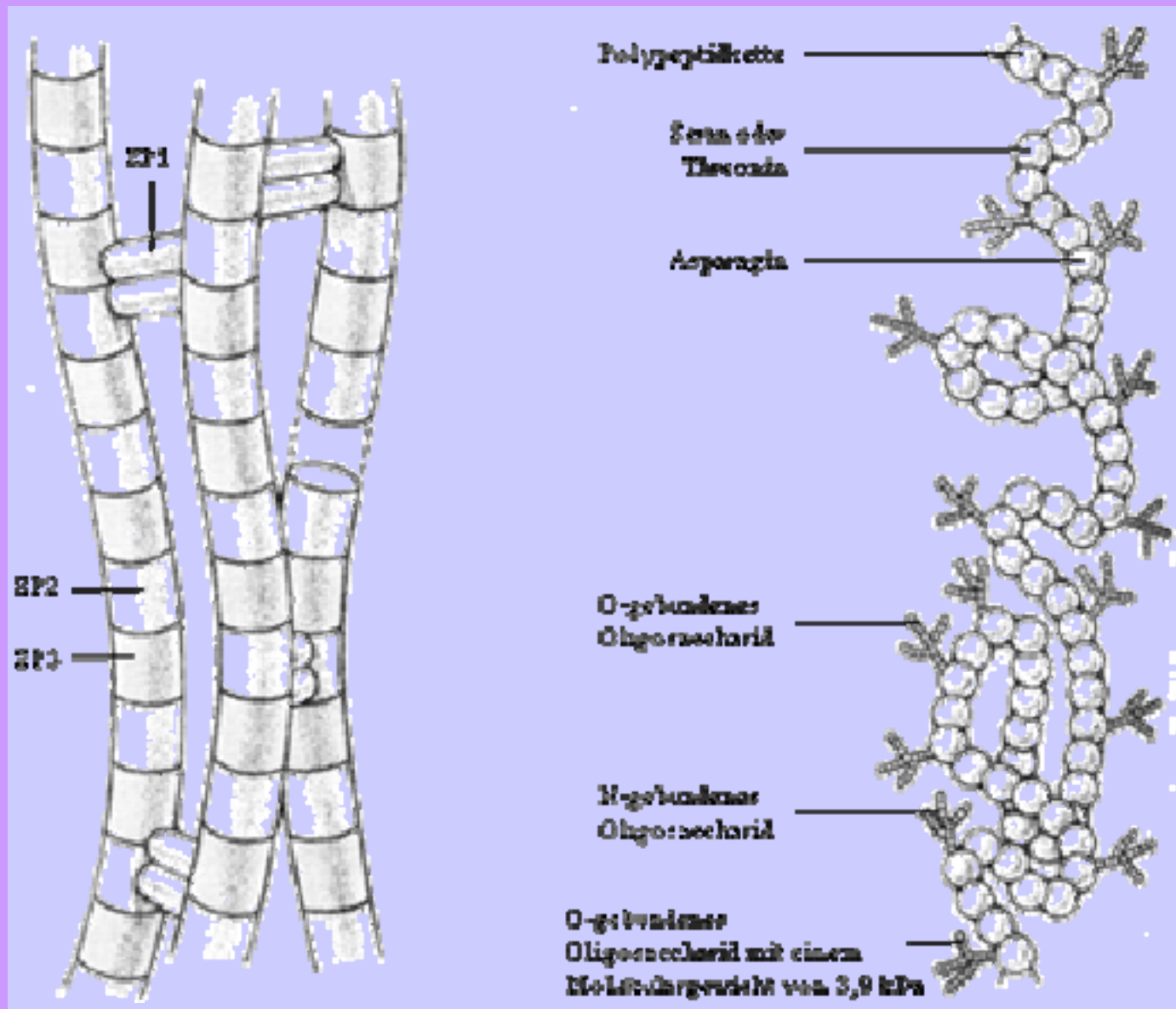


**Ovocita in metafase II.**  
Ispessimento della zona  
pellucida.

Fotografia  
proprietà del  
Centro "Genesis"



# Composizione della zona pellucida



## 4- Reazione acrosomiale

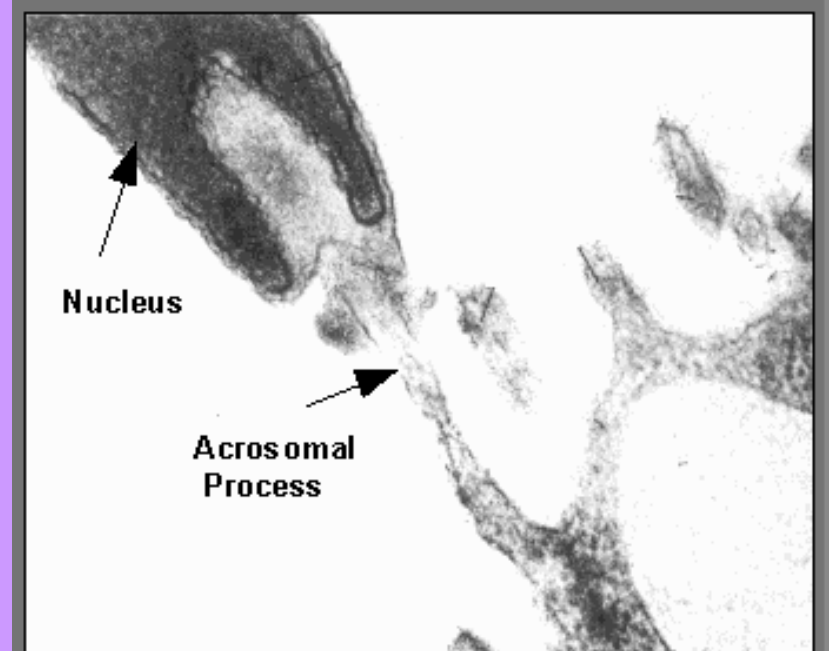
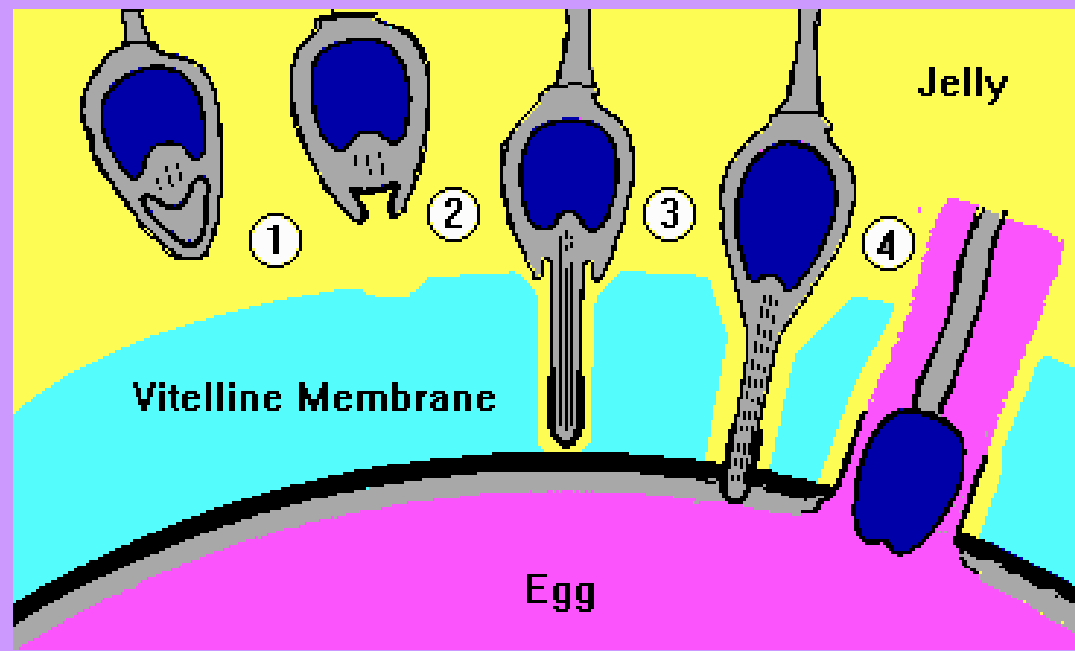
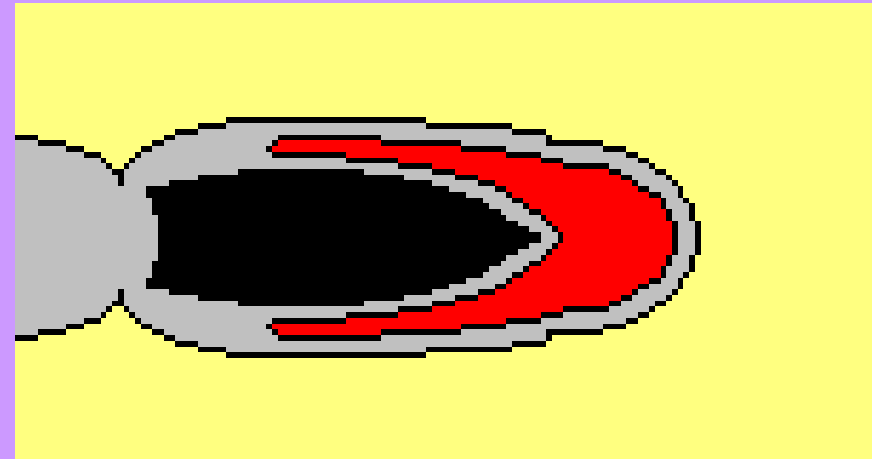
La proteina della membrana pellucida ZP3, principale proteina riconosciuta dalla membrana dello spermatozoo, stimola la reazione acrosomiale, cioè la fuoriuscita del contenuto (enzimi litici) dell'acrosoma. ZP3 stimola una serie di reazioni mediate da una complessa trasduzione del segnale.

In tal modo gli spermatozoi possono farsi strada nella zona pellucida, trasformando nel contempo la stessa ZP3.

La reazione acrosomiale comporta una fusione tra la membrana plasmatica e quella acrosomiale nella regione anteriore. Si osserva una specie di vescicolazione. Tale reazione è mediata dalle stesse classi di proteine che mediano il riconoscimento vescicola-target (v SNARE e t SNARE) e la fusione (SNAP e NSF) nel traffico di vescicole.

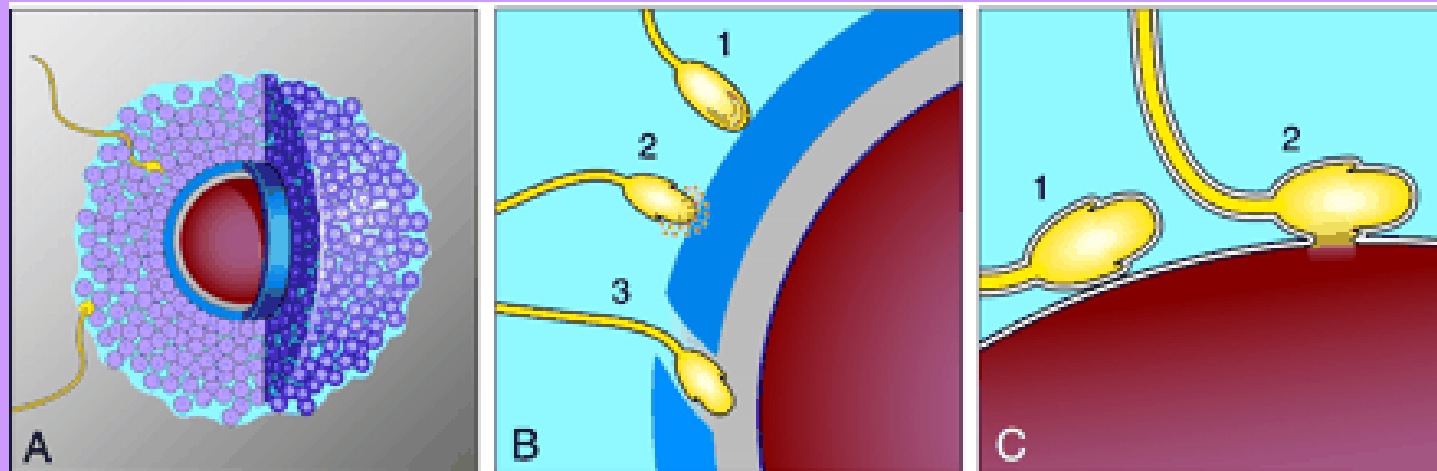
## mentre la reazione acrosomiale progredisce...

lo spermatozoo perde porzioni crescenti di acrosoma e di membrana plasmatica dalla porzione anteriore (vedi animazione). Se la reazione non si è verificata fuori tempo, lo spermatozoo può giungere fino all'oolemma.

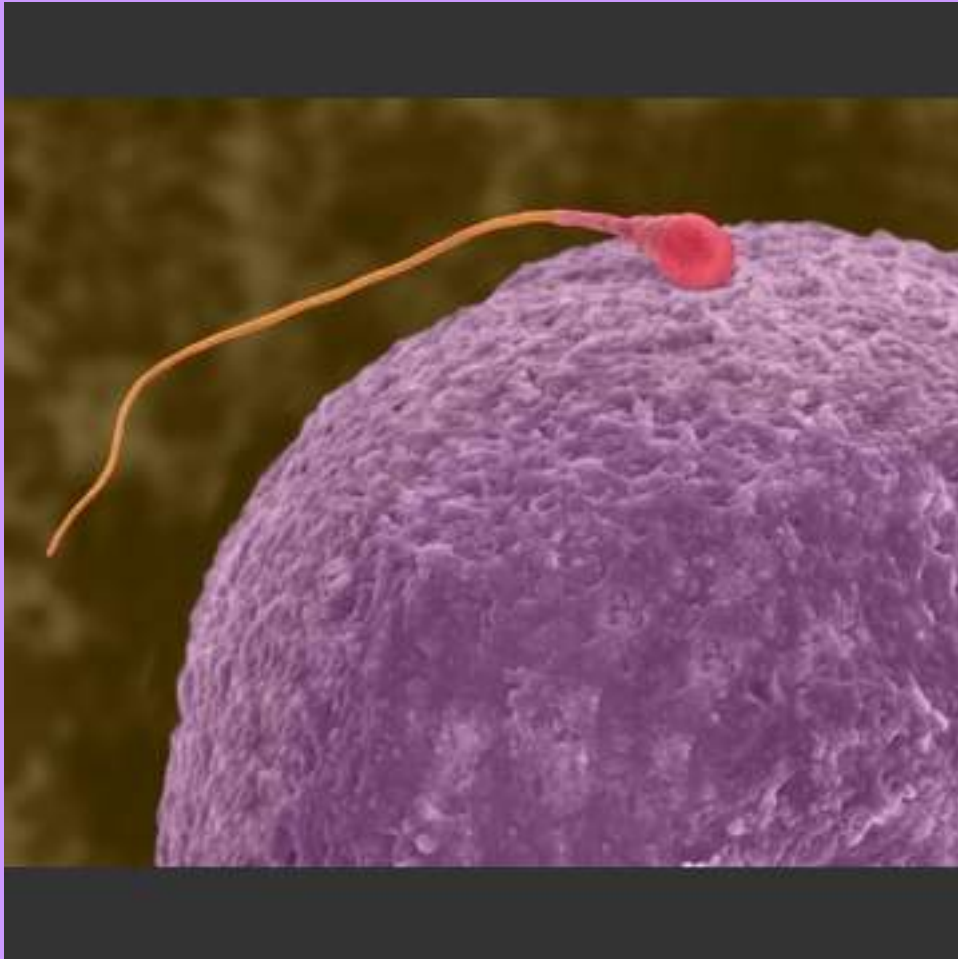


# 5- Penetrazione nella zona pellucida

Per la penetrazione nella zona pellucida lo spermatozoo ricorre a due sue proprietà: il corredo di enzimi litici e la spinta del flagello.



## 6- Legame alla membrana dell'ovocita



Attraversata la membrana pellucida, lo spermatozoo si può legare alla membrana plasmatica dell'ovocita. Il legame avviene nella regione postero-laterale della testa dello spermatozoo, in una zona dove non era presente l'acrosoma.

In alcune specie il legame avviene grazie ad una proteina dello spermatozoo, la *fertilina*, che si lega alla membrana dell'ovocita e favorisce la fusione.

# 7- Attivazione dell'ovocita e reazione corticale

Appena lo spermatozoo si è legato alla membrana dell'ovocita, questo subisce una serie di rapide reazioni.

1. Attivazione metabolica
2. Completamento della II divisione meiotica con espulsione del II globulo polare
3. Reazione corticale

TUTTI QUESTI FENOMENI SONO SCATENATI DALL'INFLUSSO DI CALCIO DOVUTO ALLA PENETRAZIONE DELLO SPERMATOZOO. SI DETERMINA COSÌ DEPOLARIZZAZIONE DELLA MEMBRANA E CONSEGUENTE APERTURA DI CANALI DEL CALCIO.

# L'attivazione metabolica

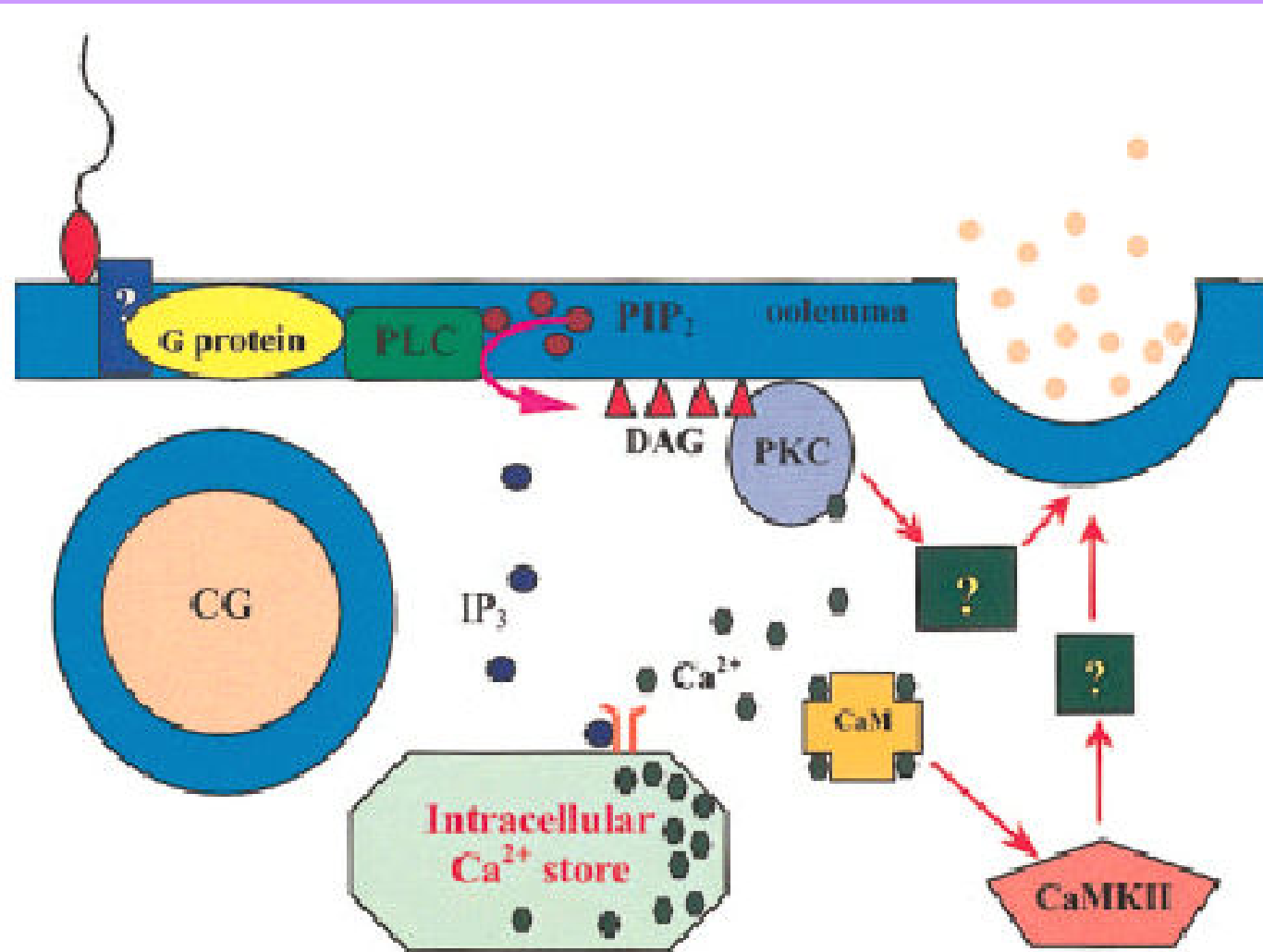
L'attivazione metabolica dell'ovocita è conseguente ad una trasduzione di segnale innescata dal legame dello spermatozoo ad un recettore di membrana dell'ovocita. Viene attivata una fosfolipasi C, che determina la scissione di  $PIP_2$  di membrana in diacil-glicerolo (DAG) e  $IP_3$ . Numerosi eventi “a valle” di tale attivazione portano al rilascio di calcio dal RE.

L'onda del calcio è transitoria.

Nell'ovocita hanno così inizio diverse reazioni innescate dal  $Ca^{++}$ .

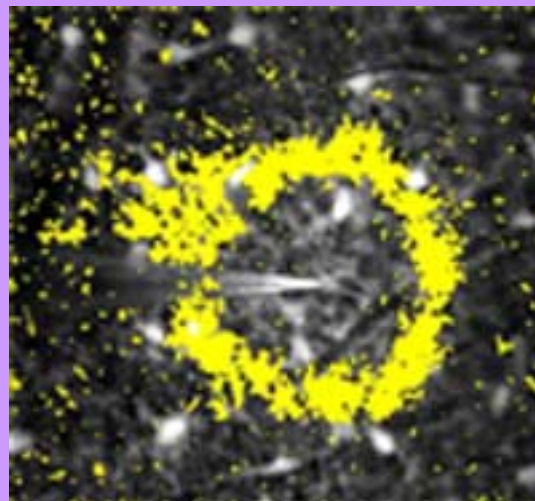
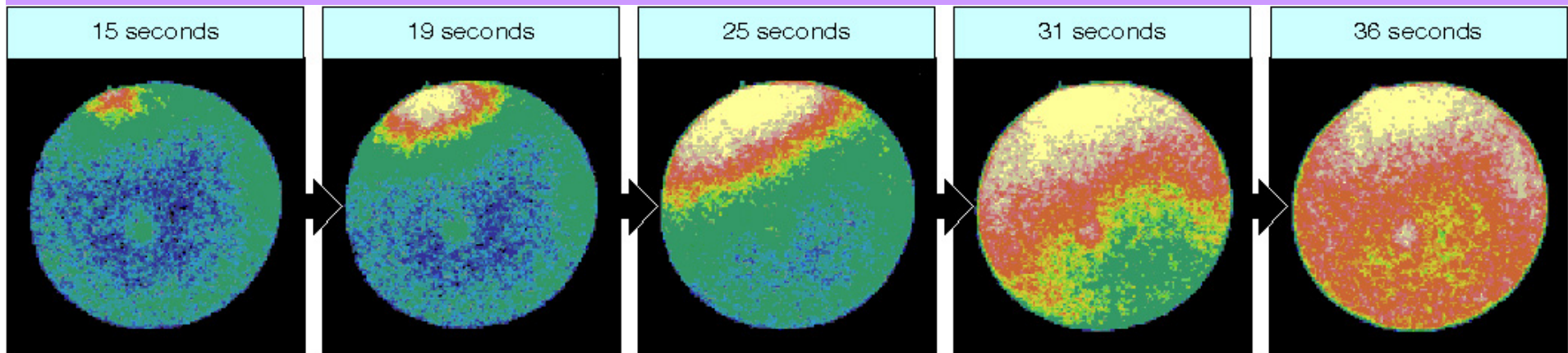
[http://worms.zoology.wisc.edu/frogs/fert/fert\\_ip3.html](http://worms.zoology.wisc.edu/frogs/fert/fert_ip3.html)

# Il segnale di membrana mediato dal legame con lo spermatozoo



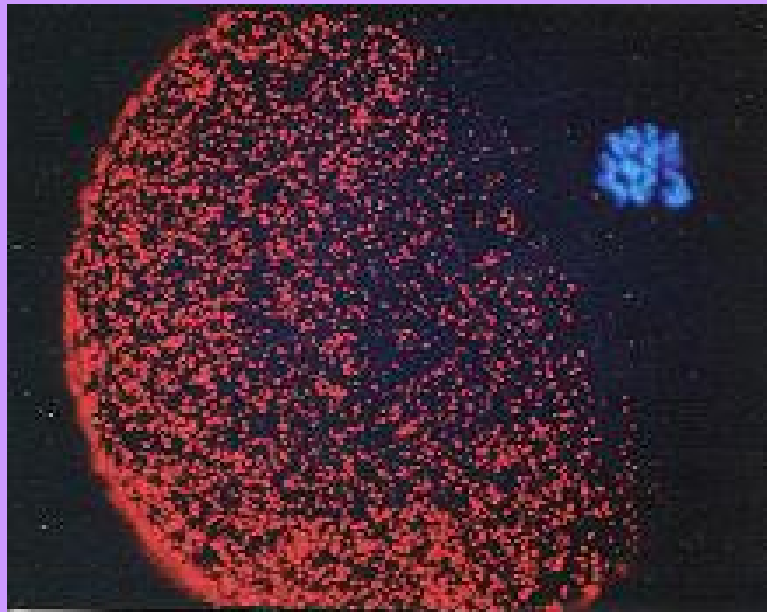


# L'INFLUSSO DI CALCIO



# La reazione corticale

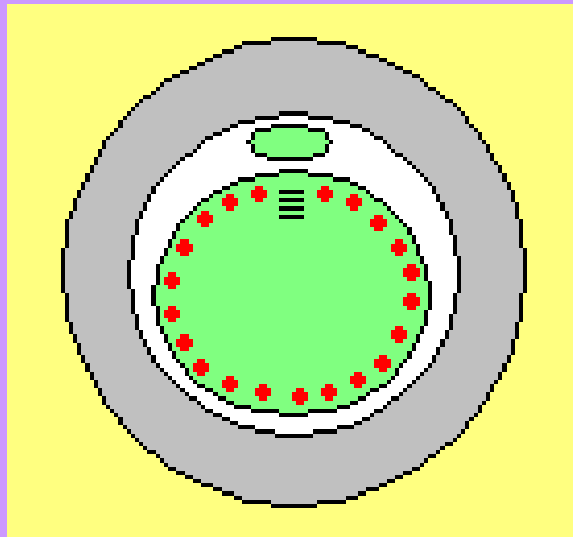
La reazione corticale consiste in una massiccia esocitosi dei *granuli corticali* successiva all'attivazione dell'ovocita. I granuli corticali contengono una miscela di enzimi, tra cui diverse proteasi, che diffondono nella zona pellucida, inducendo la *reazione zonale*. Queste proteasi alterano la struttura della zona pellucida, rendendola impenetrabile da ulteriori spermatozoi. Anche alcune proteine della membrana plasmatica vengono alterate e gli spermatozoi circostanti vengono distrutti.



# 8- Reazione della zona pellucida

La reazione della zona pellucida determina il **blocco della polispermia**. Infatti si attuano i seguenti cambiamenti:

- indurimento (nessuno spermatozoo riuscirà più a penetrarvi)
- distruzione dei recettori (alterazione di ZP3)



# 9- Eventi successivi alla fecondazione

In seguito al legame con la membrana plasmatica, lo spermatozoo penetra nell'ovocita. In particolare, la sua testa viene incorporata nel citoplasma. La membrana nucleare si disperde e il nucleo comincia a scambiare le protammine con degli istoni di origine materna, decondensandosi rapidamente. Un nuovo involucro nucleare circonda quindi il nucleo maschile.

Con lo spermatozoo, nella specie umana, entra anche il flagello, che fornisce il centrosoma dello zigote. I microtubuli dello spermatozoo si mescolano con quelli dell'ovocita, mentre i mitocondri vengono di norma distrutti.

Intanto il nucleo dell'ovocita ha completato la II divisione meiotica, con l'espulsione del II globulo polare..

# L'anfimissi

I due nuclei aploidi, ora indistinguibili e denominati PRONUCLEI, vanno contemporaneamente ma indipendentemente in fase S, attraversano la fase G<sub>2</sub> ed entrano in mitosi.

L'unione dei due patrimoni genetici (anfimissi) ha luogo in metafase, dove i cromosomi dei due partners si mescolano, ricostituendo il patrimonio diploide.

Lo zigote, dividendosi, va a formare due *blastomeri*, poi quattro...

Il seguito è materia dell'embriologia!

