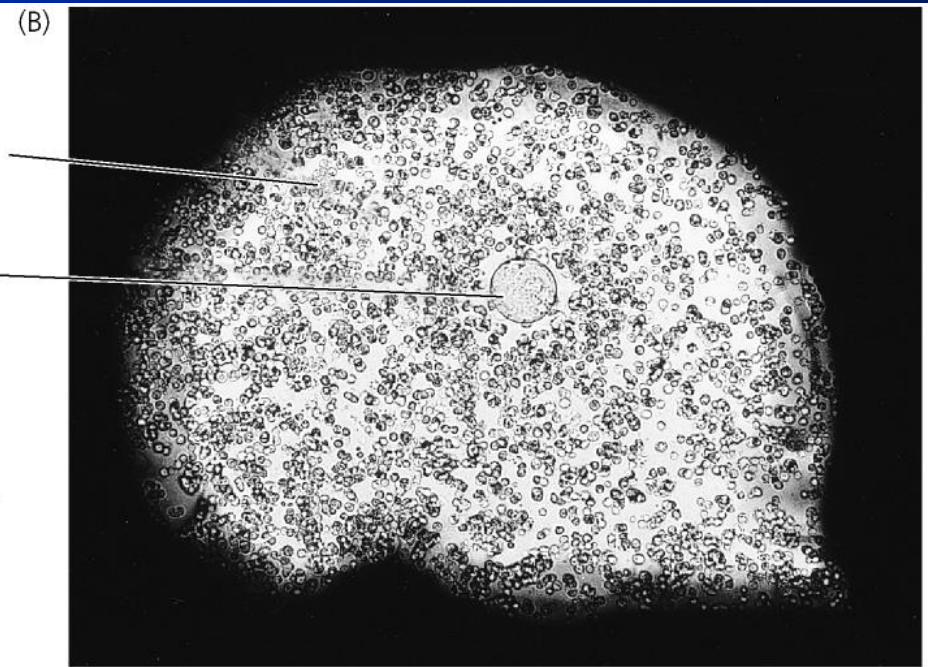
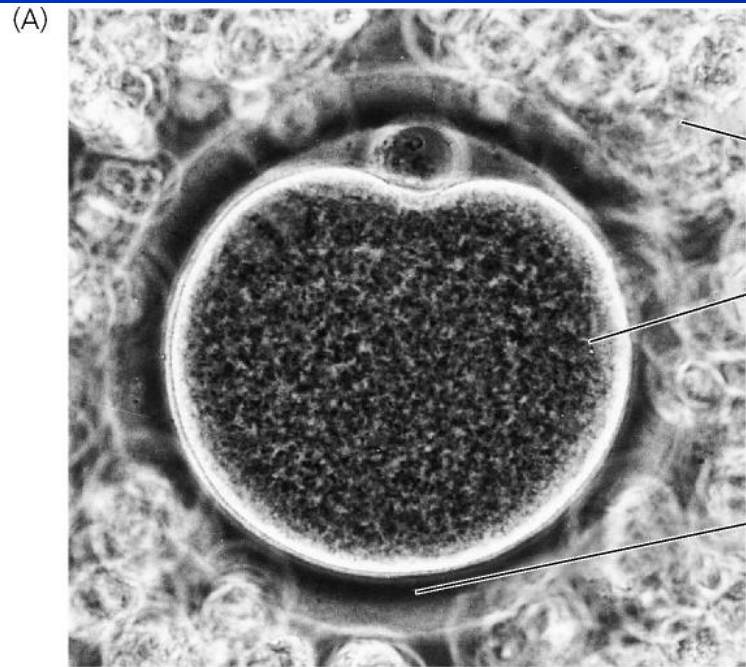


# La fecondazione interna



# Cellula uovo di mammifero appena ovulata



Cumulo ooforo

Uovo

Zona pellucida

Fattori che guidano lo spermatozoo verso l'uovo:

**Chemiotassi:** rilascio di molecole chemiotattiche da parte del cumulo ooforo, fra cui il progesterone, che attiva la motilità del gamete

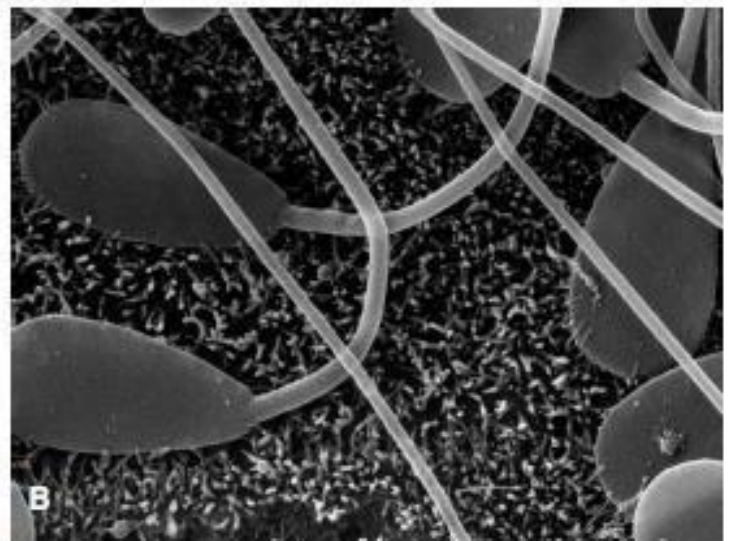
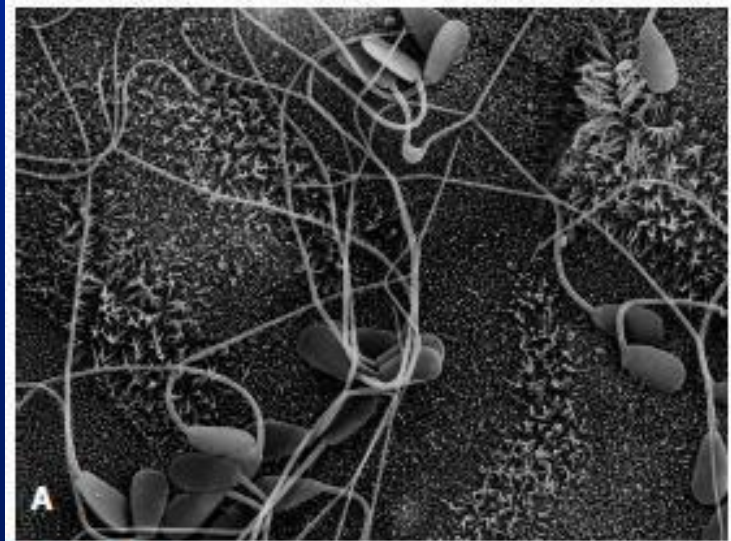
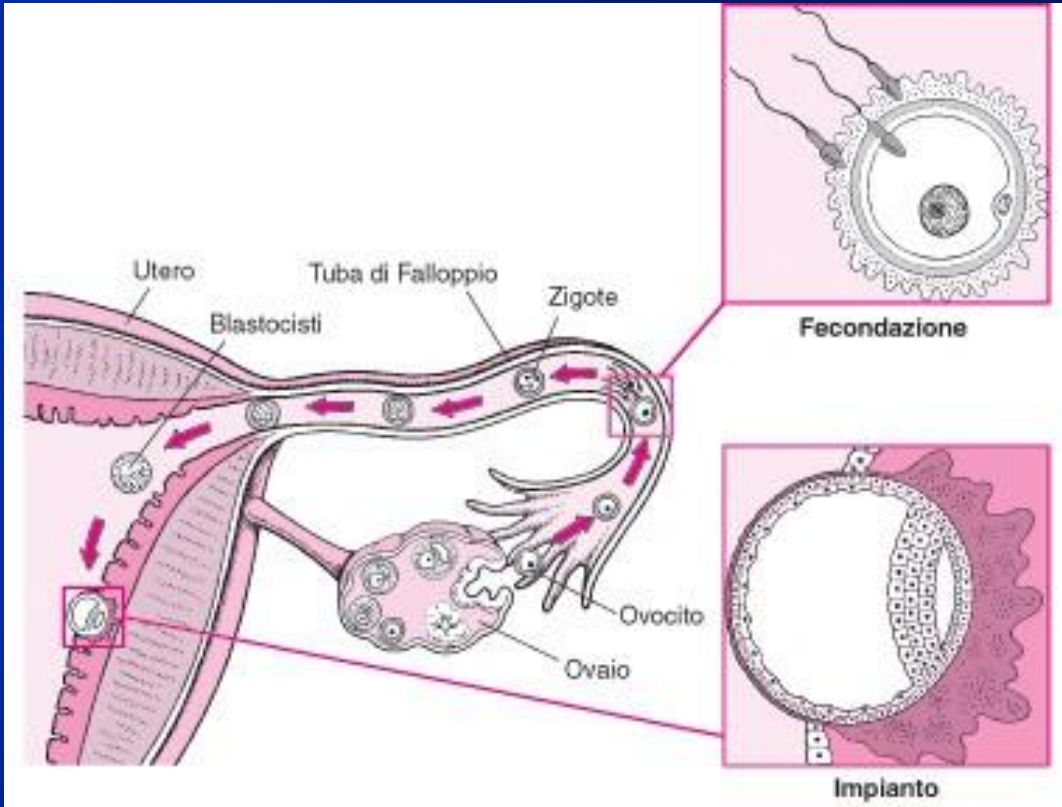


Figura 19

- **CAPACITAZIONE: acquisizione della capacità di fecondare**

- ***Modificazioni di membrana***

- Albumina presente nelle vie genitali femminili **rimuove il colesterolo** dalla membrana dello spermatozoo. Ciò aumenta la fluidità della membrana rendendo possibile la reazione acrosomiale, e permette di esporre in superficie e localizzare nella parte anteriore dello spermatozoo molecole necessarie all'interazione con l'uovo. Avviene rimozione di proteine/carboidrati dalla membrana che potrebbero inibire le interazioni con l'uovo. Anche la membrana dell'acrosoma si modifica in preparazione per la reazione acrosomiale.

- ***Modificazioni biochimiche intracellulari***

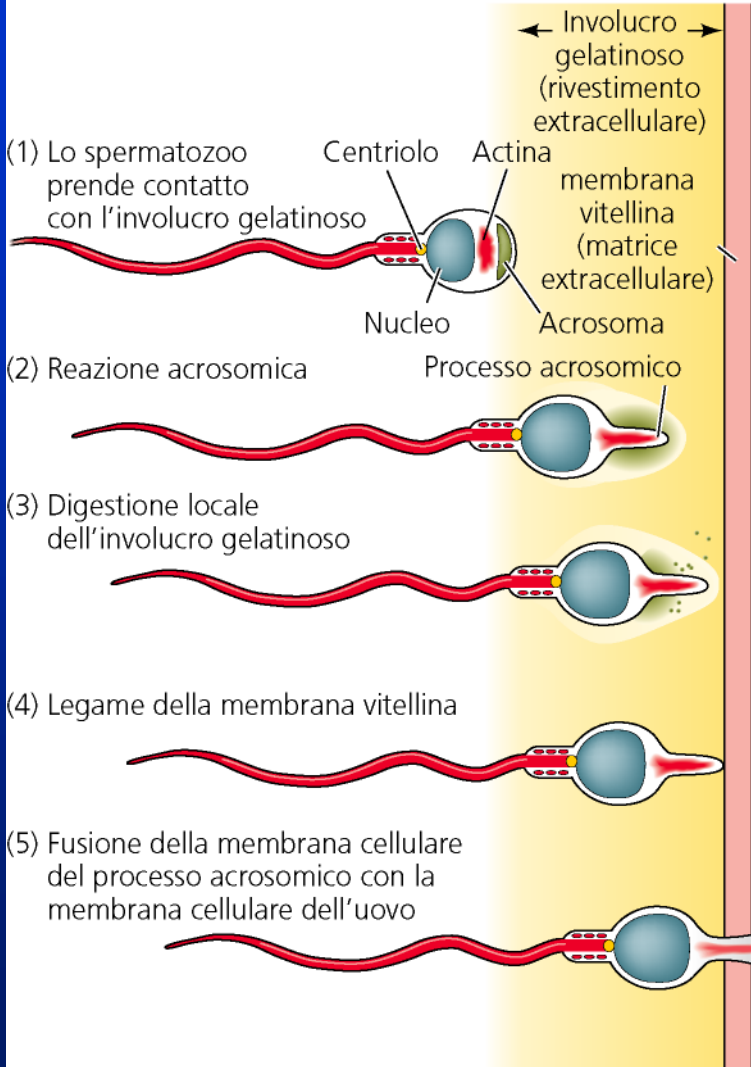
- Rilascio di ioni  $K^+$  causa iperpolarizzazione di membrana nello spermatozoo e, insieme all'efflusso di colesterolo, conduce all'**ingresso di ioni  $Ca^{++}$**  e  $HCO_3^-$  e all'aumento dei livelli di cAMP, con attivazione di vie di segnale che promuovono ulteriore aumento della motilità e regolano l'attività di proteine importanti per la fecondazione.

- La capacitazione è un evento asincrono, e potrebbe essere importante anche per massimizzare la possibilità di un evento di fecondazione al tempo stesso diminuendo la probabilità di polispermia.

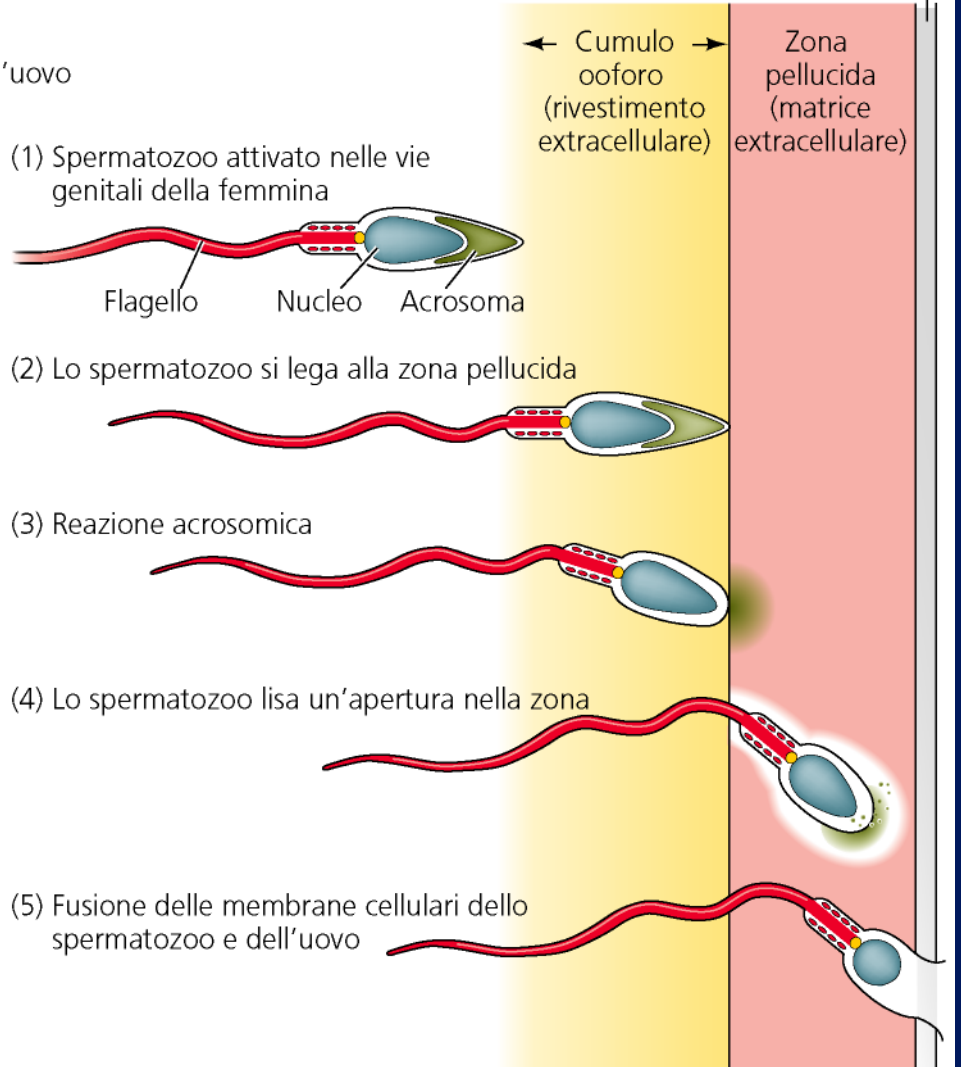
- Prima della capacitazione, lo spermatozoo aderisce alle pareti dell'ovidotto e questa interazione prolunga la vitalità del gamete. La capacitazione provoca **iperomotilità** dello spermatozoo e indebolisce il suo legame all'ovidotto.

Membrana cellulare dell'uovo

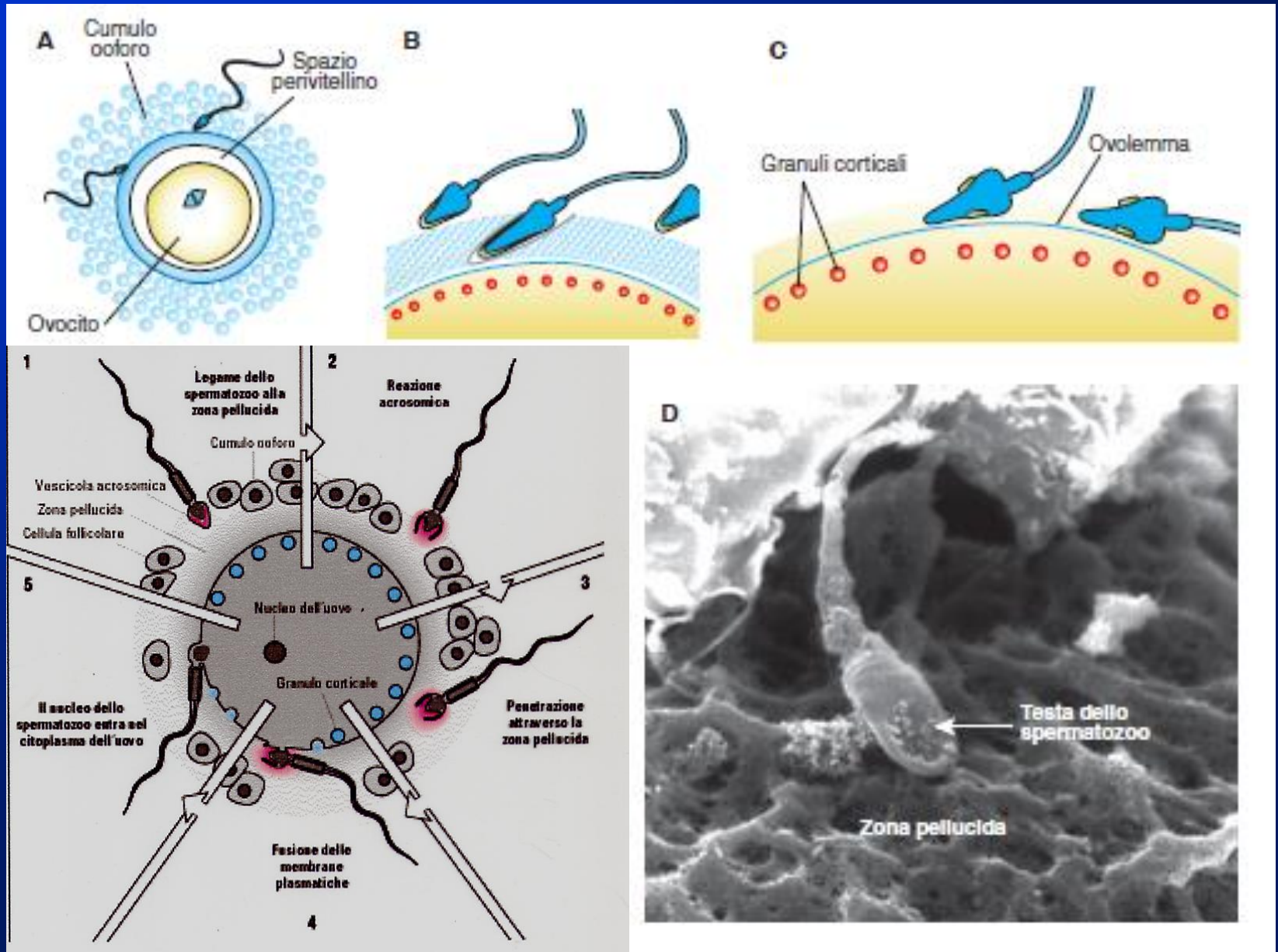
(A) RICCIO DI MARE



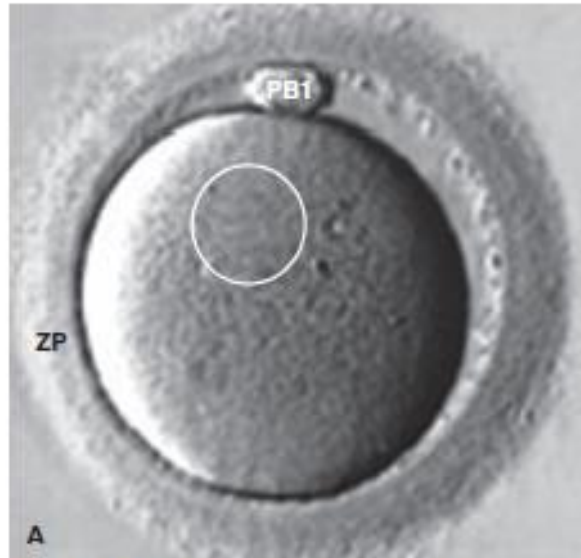
(B) TOPO



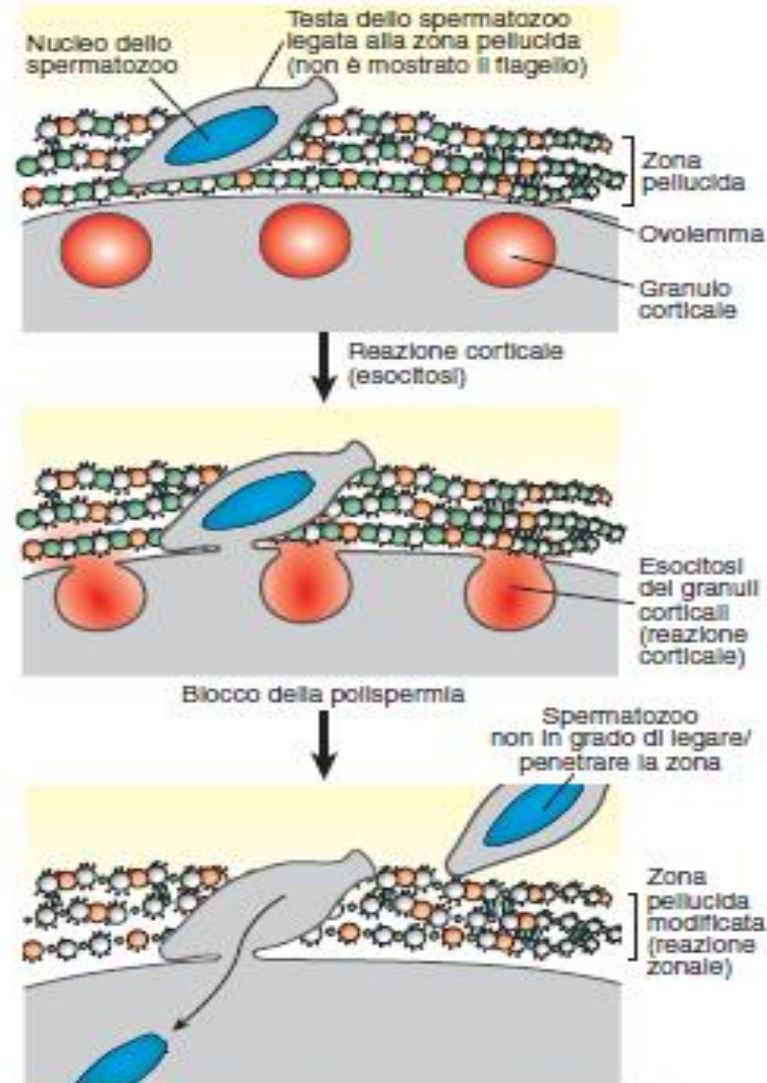
# La fecondazione interna nel mammifero



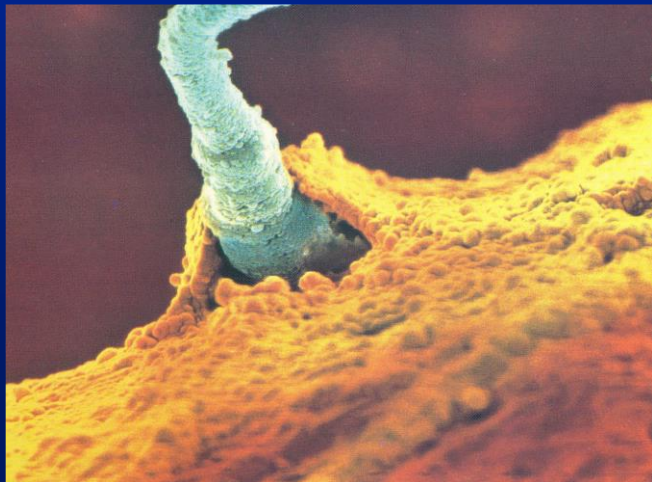
# La Zona Pellucida media l'interazione uovo-spermatozoo



**FIGURA 8-8** ■ Un ovocito prima (A) e dopo la fecondazione (B). I due pronuclei (freccia), il pronucleo maschile è quello di maggior diametro. ZP = zona pellucida.



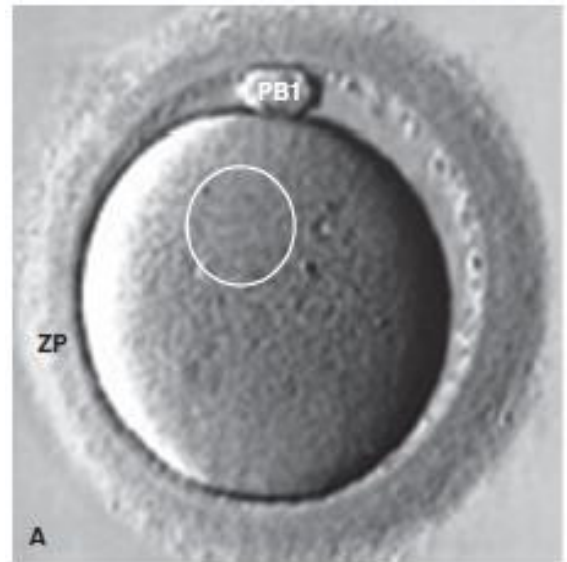
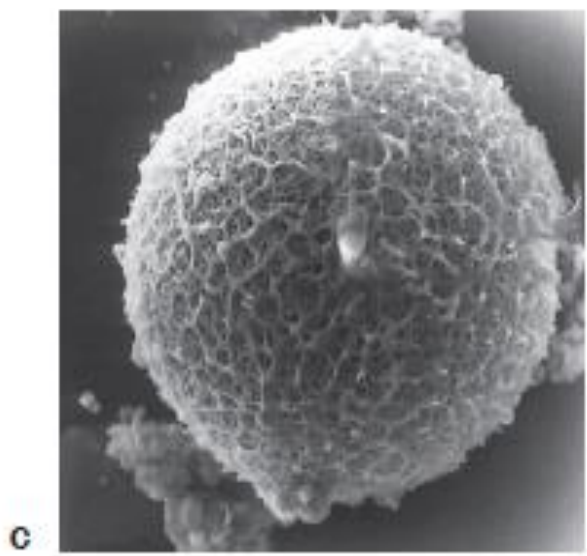
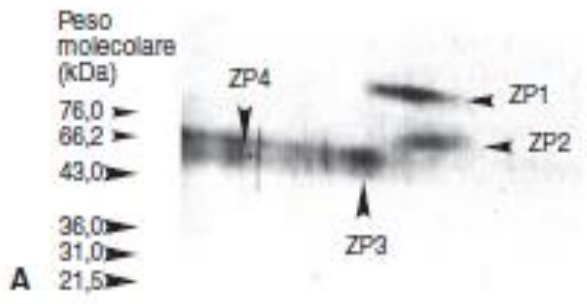
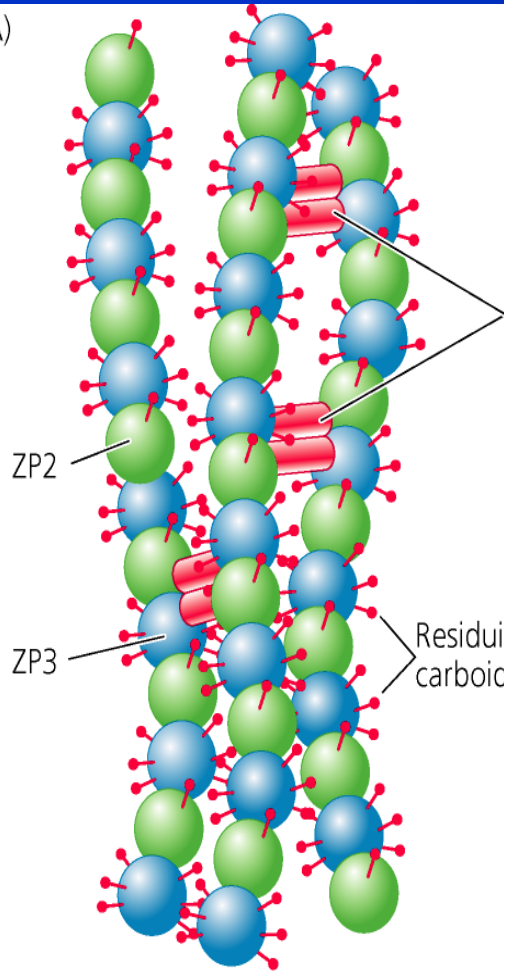
**FIGURA 8-7** ■ Fasti della reazione corticale e zonale in un ovocito fecondato.



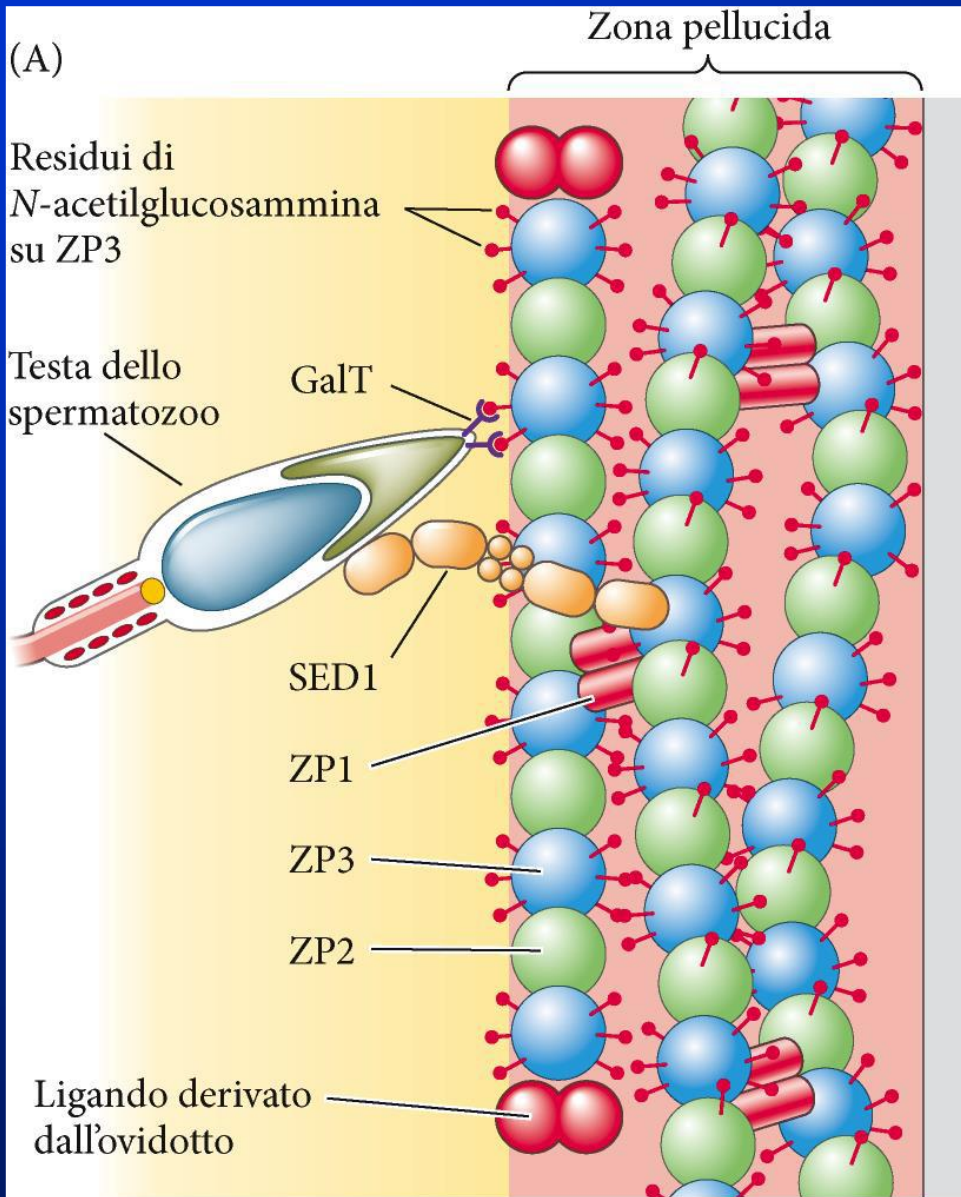
# La Zona Pellucida

1992

(A)



- ZP3- riconoscimento primario
- ZP2- riconoscimento secondario
- ZP1- solo ruolo strutturale strutturale della Zona Pellucida

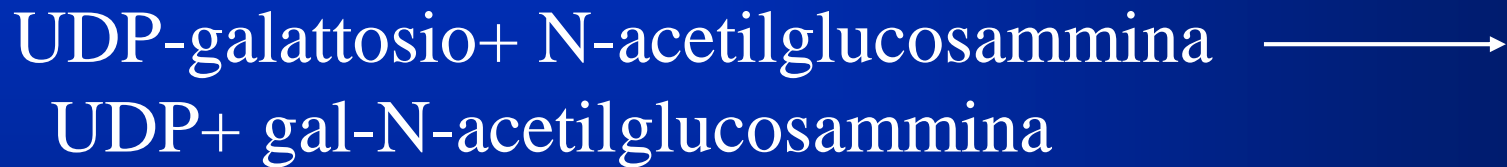


(B)



# Recettori per la ZP3 sullo spermatozoo

1. Recettore per il galattosio
2. Glicosiltransferasi che lega N-acetilglucosammina

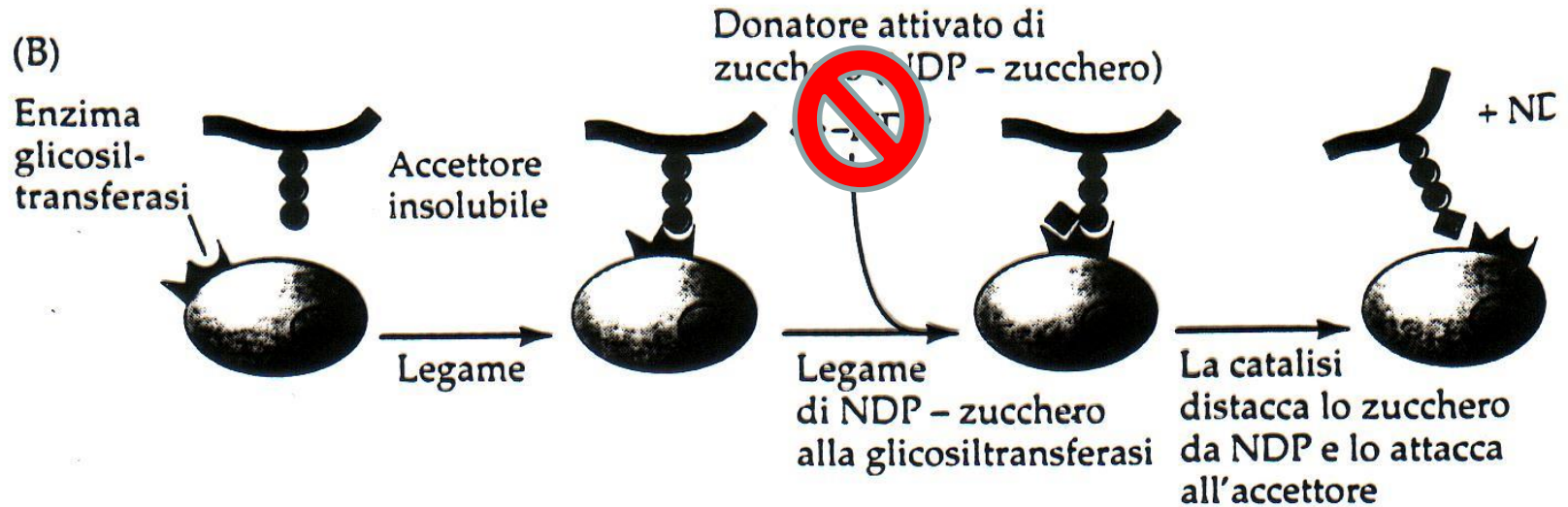


3. Proteina trans-membrana di 95kDa con attività tirosina chinasi

---

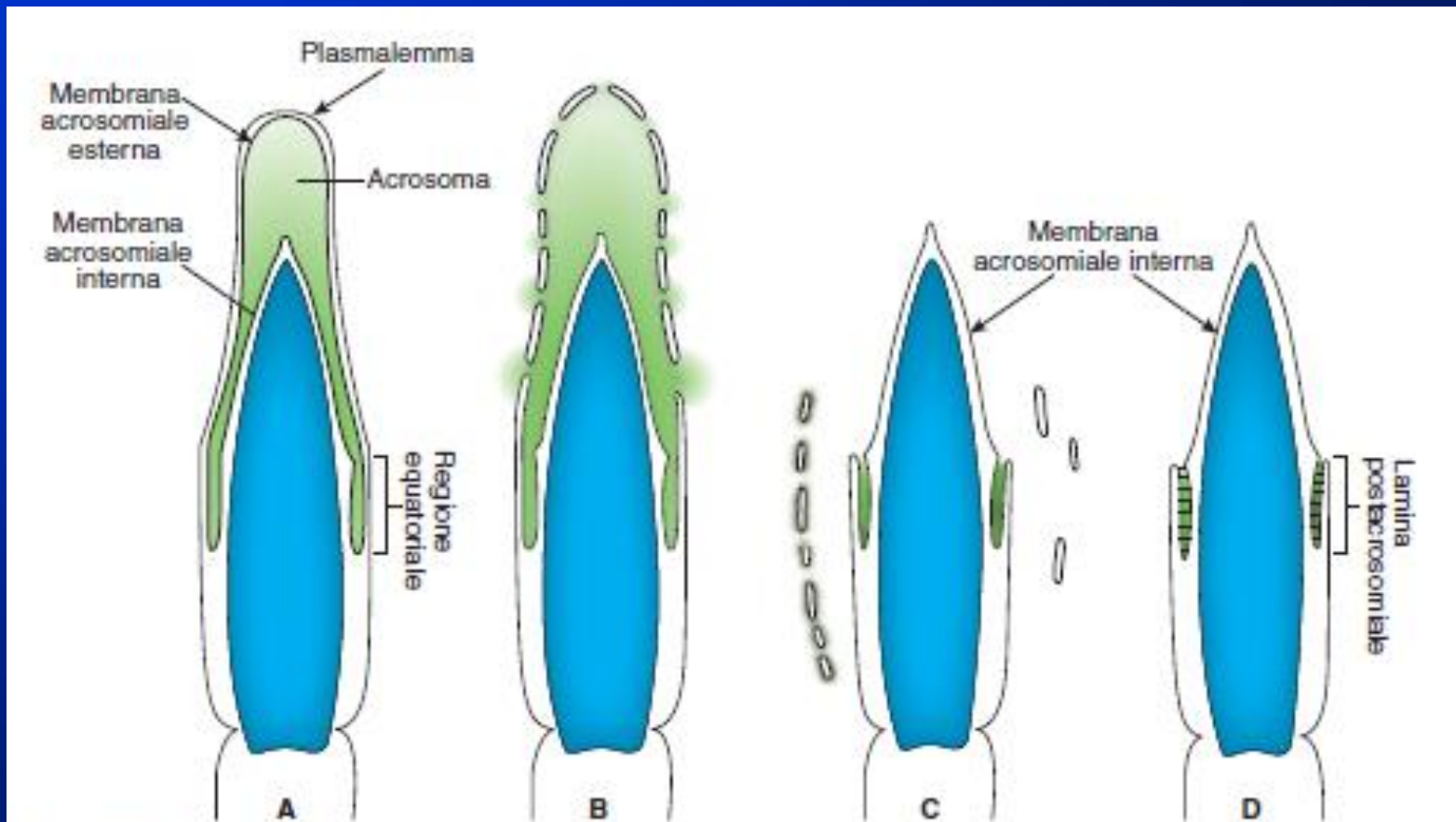
SED1: proteina di matrice che contiene Notch-EGF-like binding region/discoina è espresso sulla membrana plasmatica dello spermatozoo

# Glicosiltransferasi

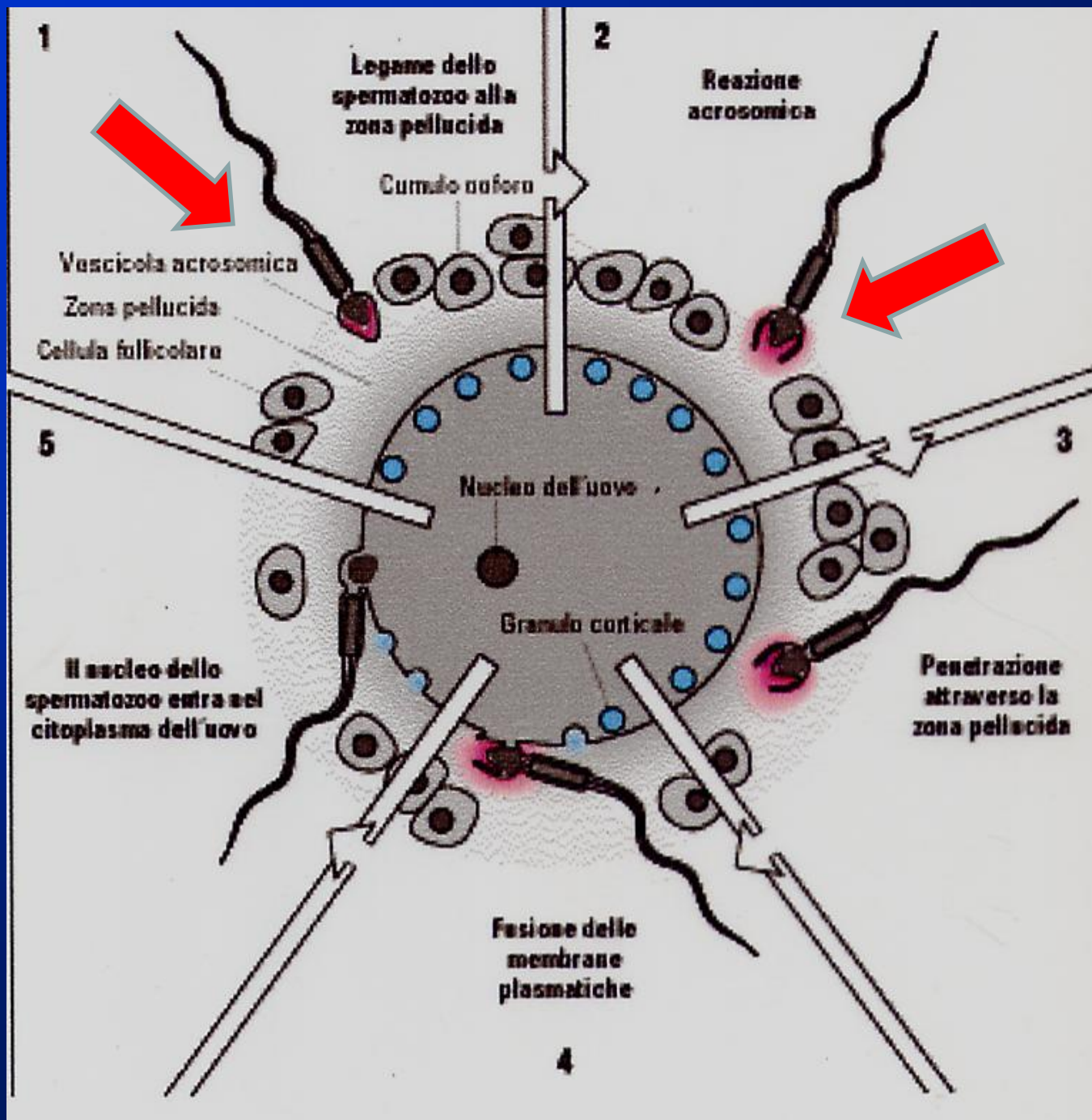


# Reazione acrosomiale nel mammifero

## Il legame con la ZP3 attiva la reazione acrosomiale

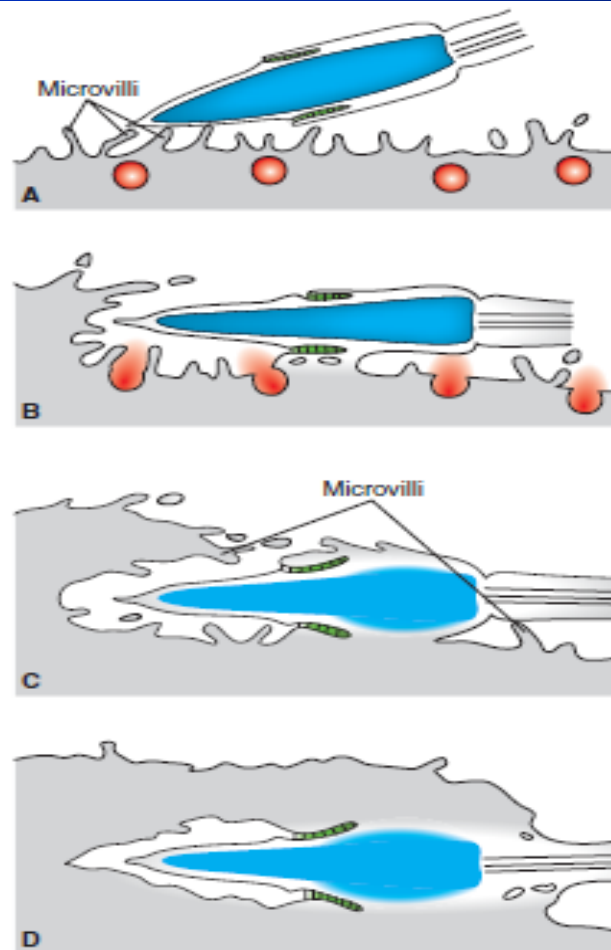


**FIGURA 8-5** ■ Reazione acrosomiale dello spermatozoo. A) Spermatozoo intatto, munito di tipico cappuccio dell'acrosoma. B) Reazione acrosomiale in atto, come osservata al microscopio elettronico. C,D) Fusione e vescicolazione tra membrana plasmatica e membrana acrosomiale esterna. Al di sotto della regione equatoriale del plasmalemma si organizza la lamina postacrosomiale.



# Reazione acrosomiale nel mammifero

## Il legame ZP2 + secondario alla reazione acrosomiale



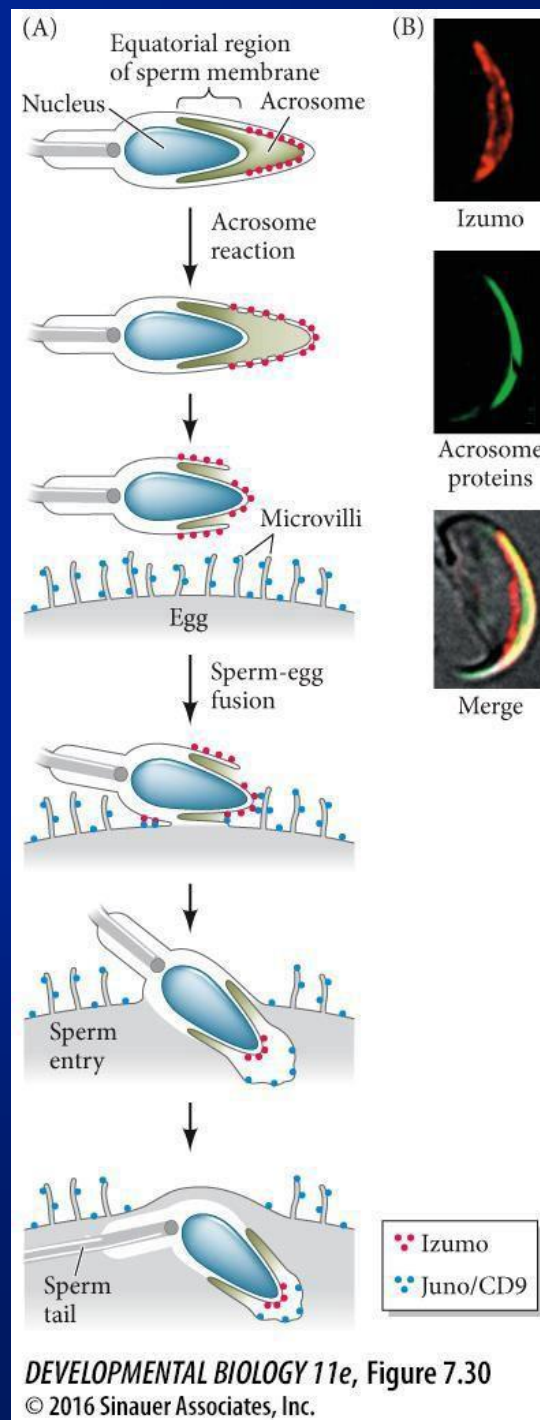
**FIGURA 8-6** ■ Lo schema indica le fasi di legame e di adessione dello spermatozoo all'ovolemme dell'ovocito. Notare i microvilli che catturano lo spermatozoo.

## Legame terziario: spermatozoo interagisce con la membrana plasmatica dell'uovo

Una proteina simile alle immunoglobuline, **Izumo**, si trova sulla membrana dell'acrosoma e viene localizzata sulla superficie dello spermatozoo in seguito alla reazione acrosomale.

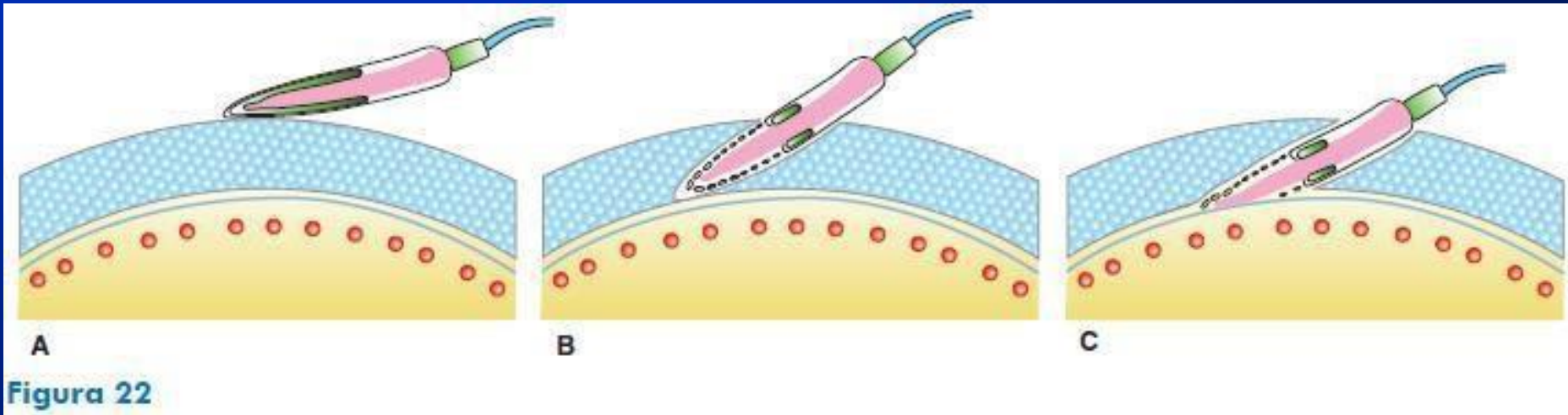
Izumo lega il complesso proteico **Juno/CD9** sui microvilli della membrana dell'uovo, avviando la fusione dei gameti.

Dopo l'ingresso del primo spermatozoo, Juno viene rilasciata dalla membrana impedendo il legame di altri spermatozoi.



# La reazione acrosomica permette allo spermatozoo di attraversare la zona pellucida e venire a contatto con l'uovo

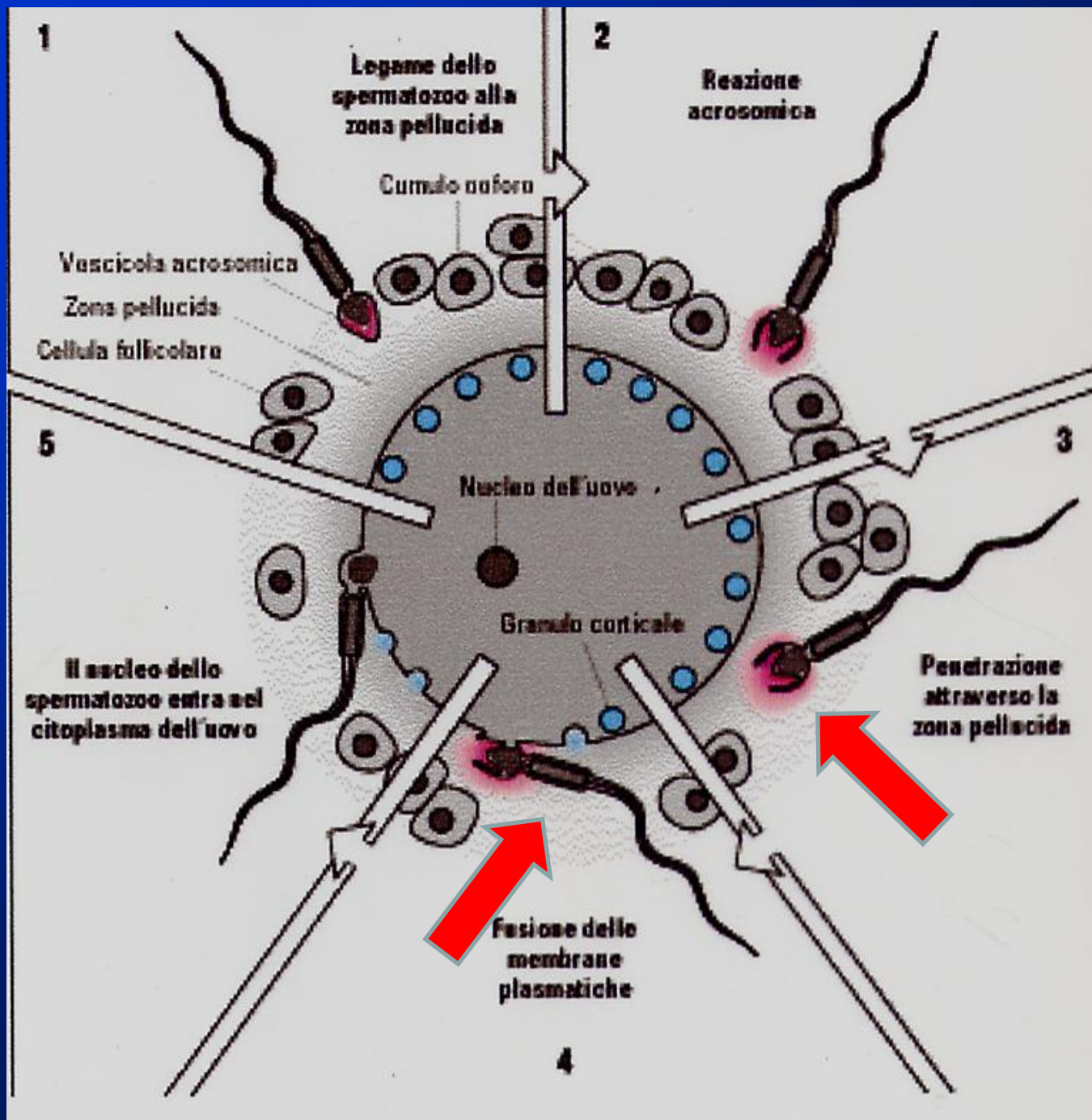
Zona pellucida



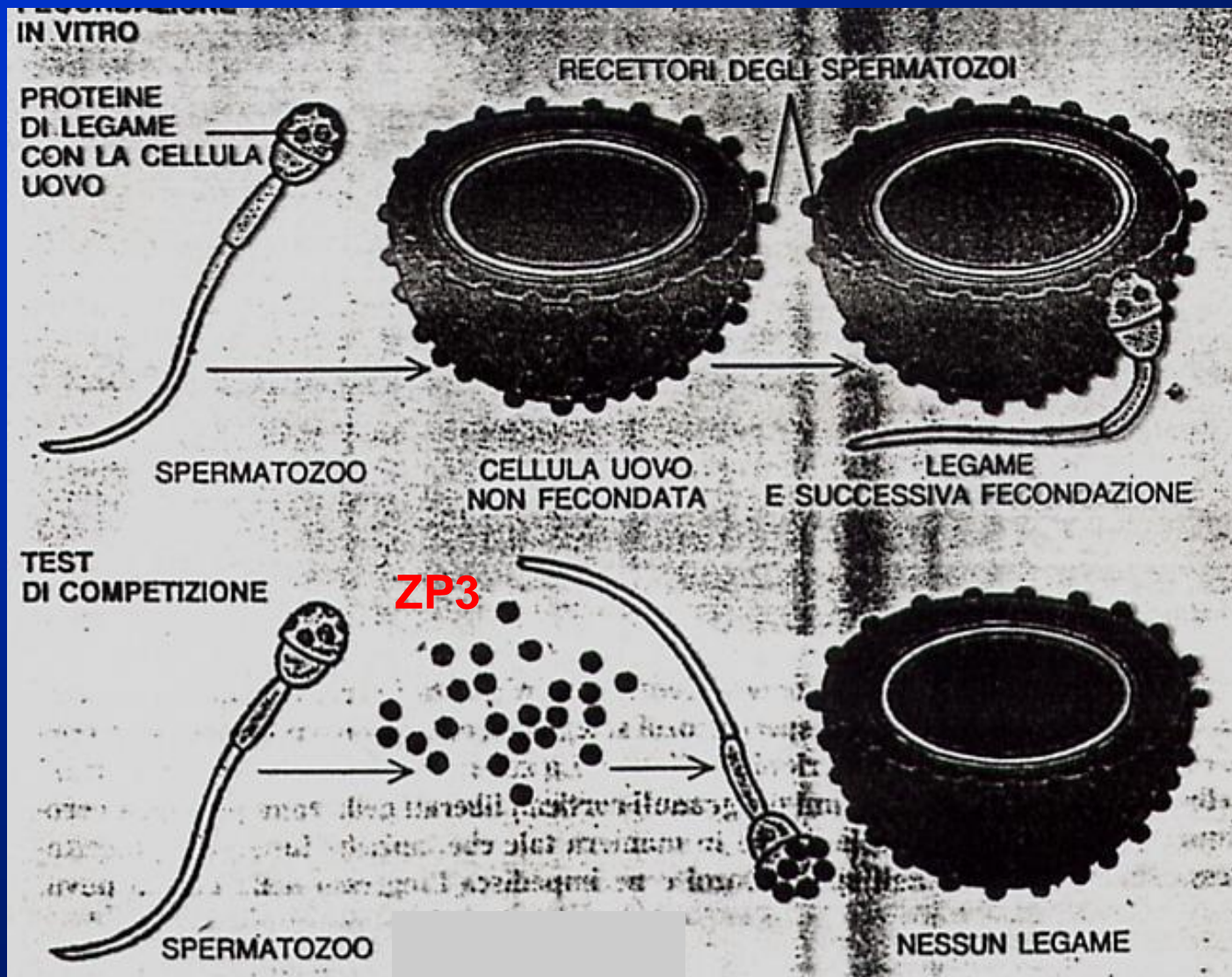
**Legame primario**  
Attivazione reazione  
acrosomica

**Legame secondario**  
Attivazione acrosina  
e digestione della  
zona pellucida

**Legame terziario**  
con la membrana dell'uovo

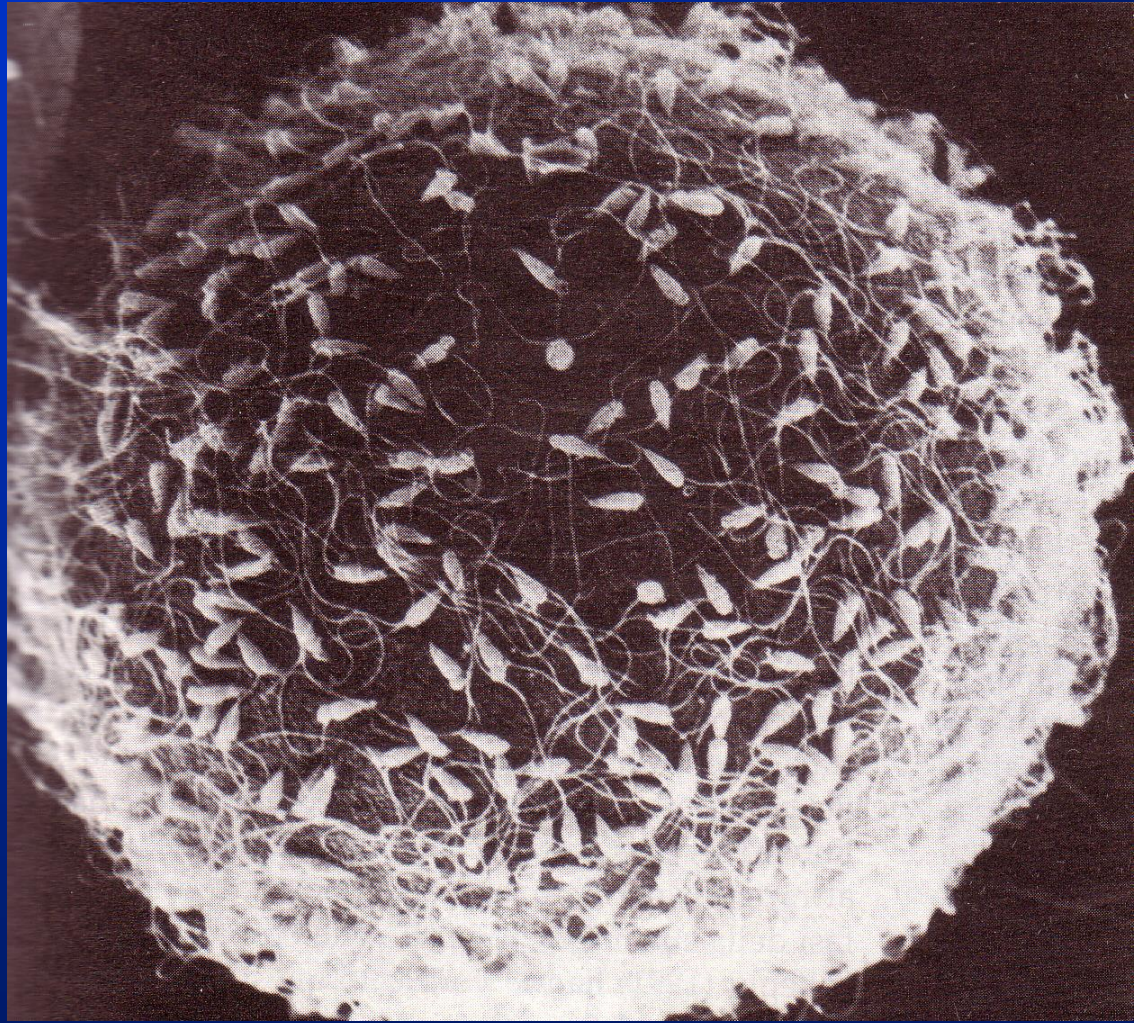


# Test di competizione



Il blocco dei recettori per ZP3 inibisce la fecondazione

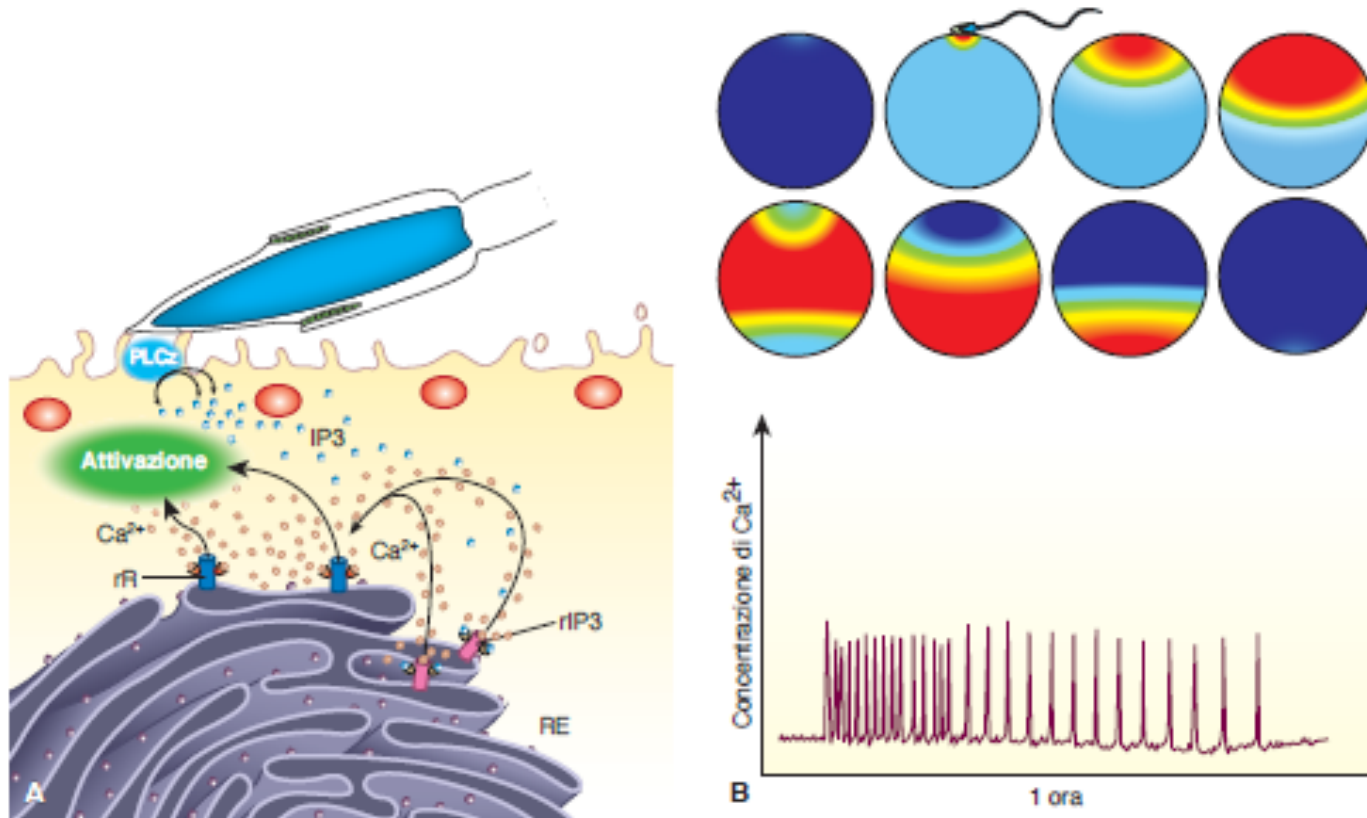
Il blocco dei recettori per ZP2 non inibisce la fecondazione, ma può bloccare la fecondazione dopo reazione acrosomiale.



# Blocco polispermia

Nel mammifero è attivo solo il blocco lento

# Il blocco lento nel mammifero

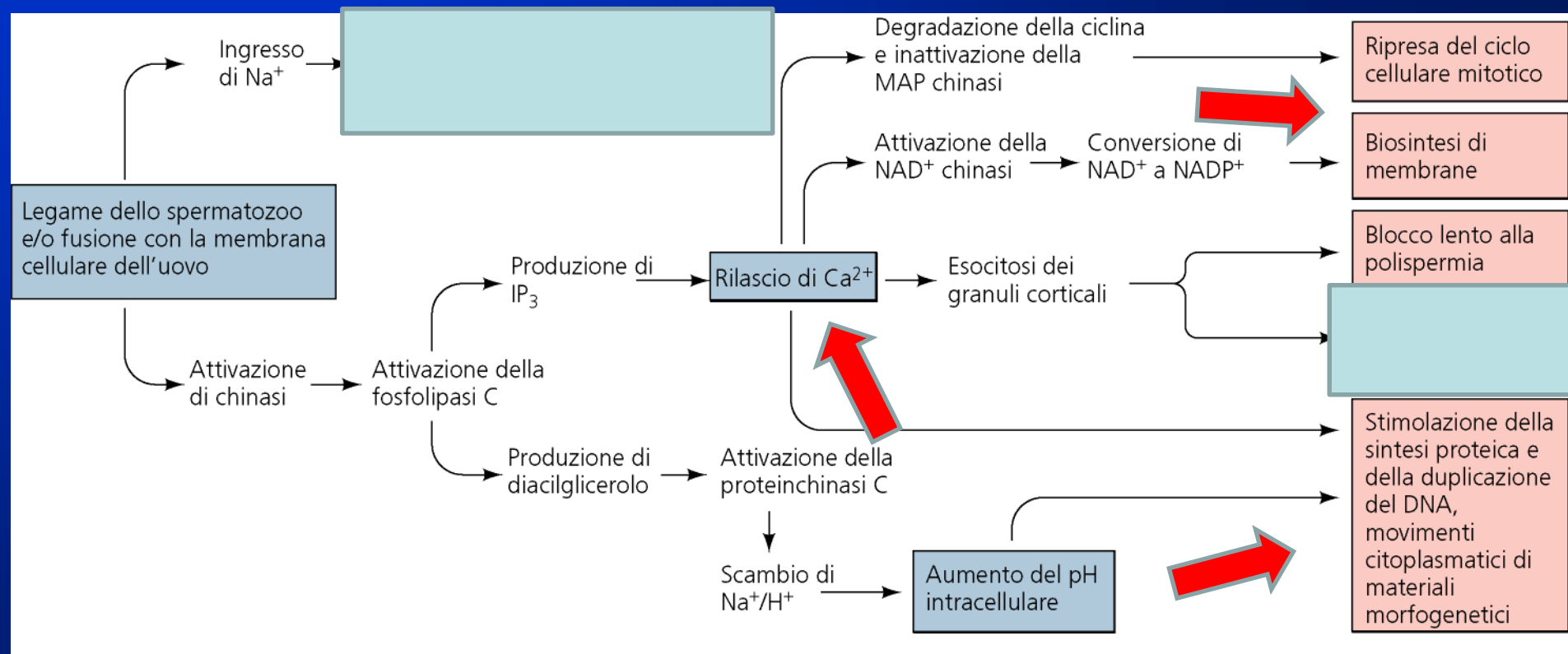


**FIGURA 8-13** ■ A) Schema del possibile meccanismo di rilascio di  $\text{Ca}^{2+}$  alla fecondazione. Al momento della penetrazione dello spermatozoo, questo rilascia o provoca il rilascio di un fattore chiamato SF, forse una fosfolipasi zeta (PLCz) che causa il rilascio di  $\text{IP}_3$  dall'ovolemme; l' $\text{IP}_3$  causa l'apertura di canali del  $\text{Ca}^{2+}$  situati nel reticolo liscio e in sequenza l'attivazione di recettori rianodinici associati ad altri canali del  $\text{Ca}^{2+}$ ; RE = reticolo endoplasmatico, rR = recettore rianodinico, rIP3 = recettore  $\text{IP}_3$ . B) In alto, visualizzazione al microscopio a fluorescenza dell'aumento di  $\text{Ca}^{2+}$  (in rosso) in un ovocito di riccio di mare. In basso, registrazione di oscillazioni dei livelli di  $\text{Ca}^{2+}$  alla fecondazione.

Non si ha formazione di una membrana di fecondazione  
Il rilascio dei contenuti dei GC serve a modificare la ZP impedendo l'attacco di altri spermatozoi

# Attivazione dell'uovo dopo fecondazione

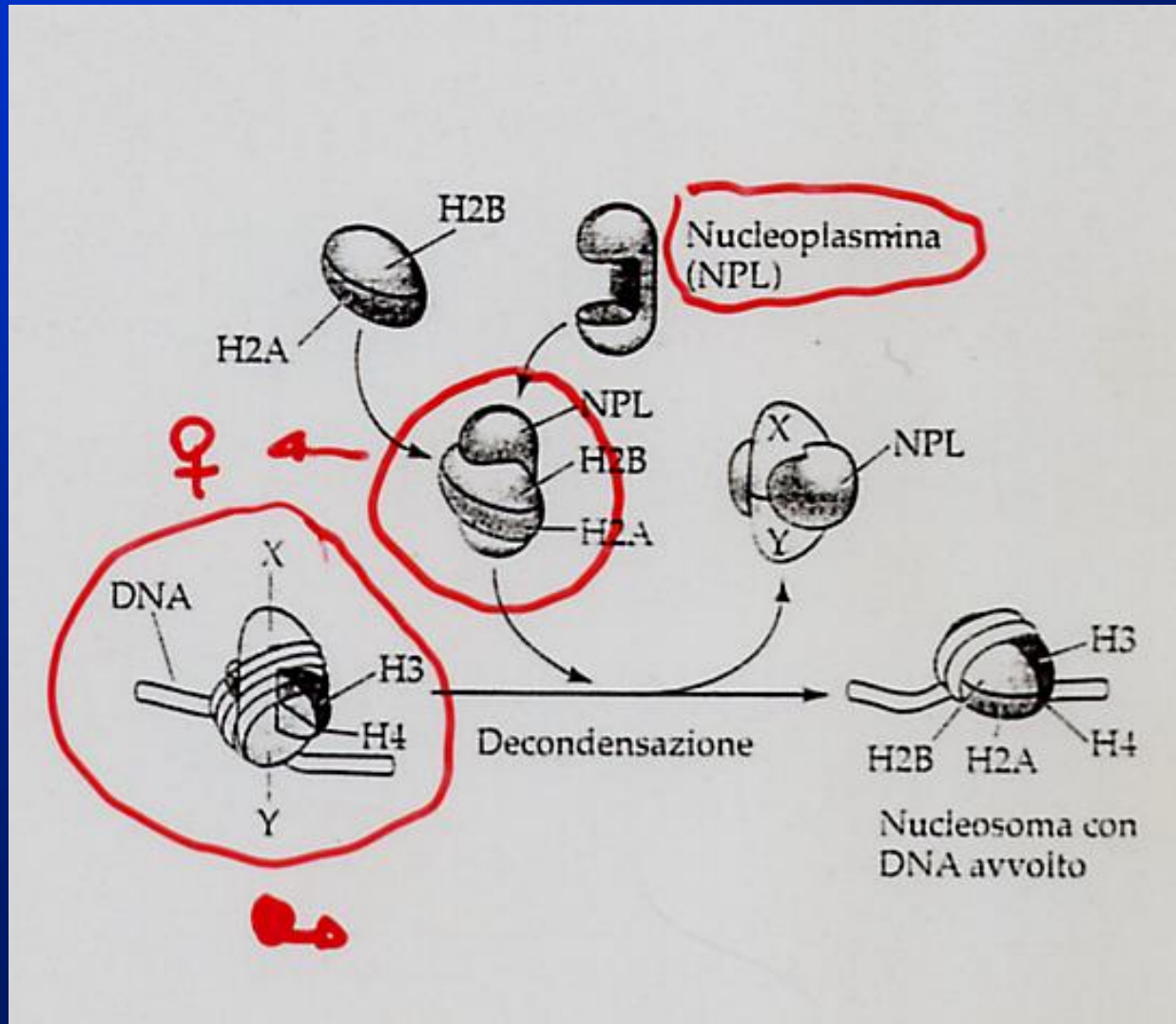
- Blocco polispermia
- Completamento meiosi per l'uovo
- Decondensazione DNA paterno
- Fusione dei due pronuclei
- Ridistribuzione del materiale citoplasmatico
- Ripresa sintesi proteica
- Attivazione divisioni mitotiche dello zigote



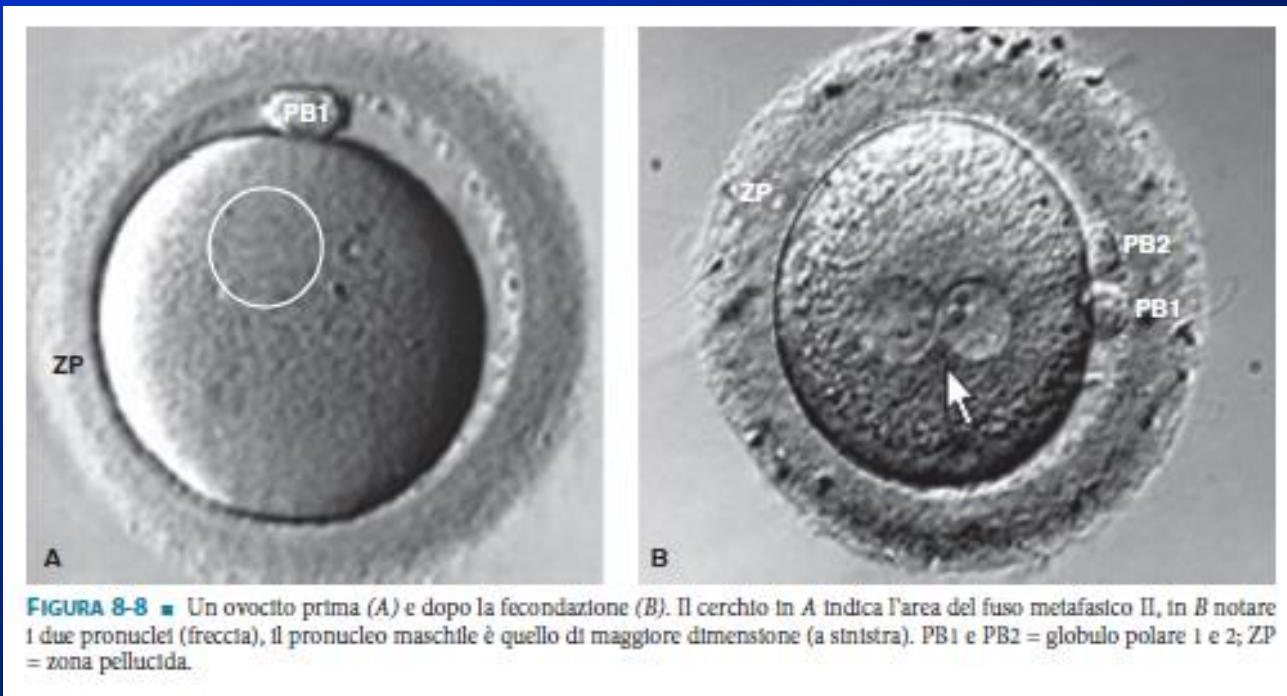
**pH 6.8**

**pH 7.2**

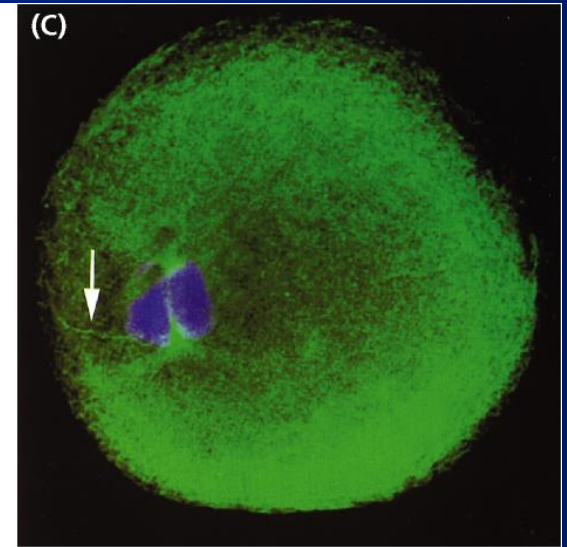
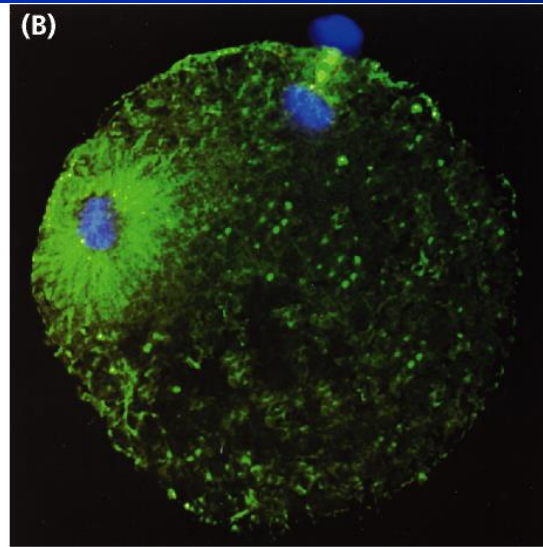
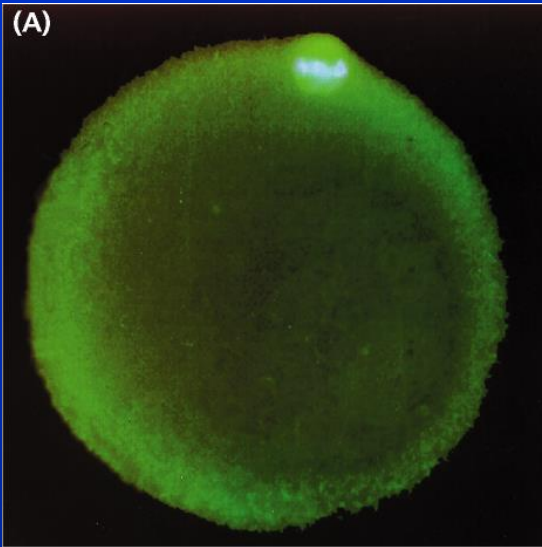
# Decondensazione nucleare negli anfi



## Completamento della meiosi II nell'uovo Decondensazione del pronucleo maschile



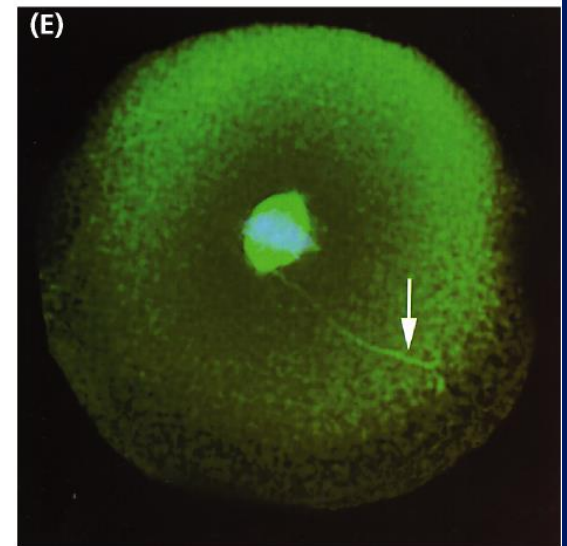
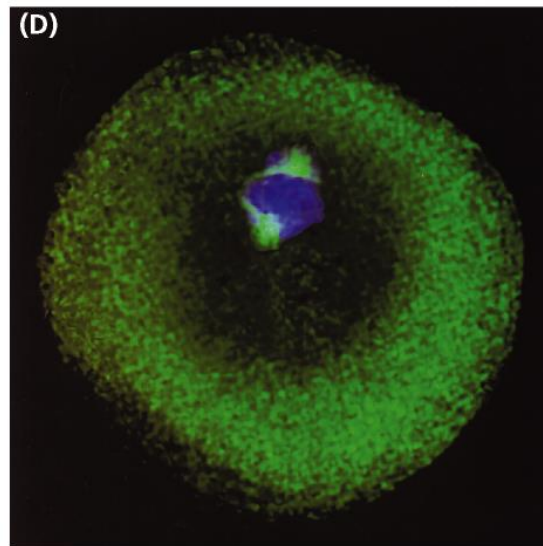
Il completamento della meiosi 2 è evidente dopo emissione del secondo globulo polare



1. completamente meiosi  
2. Decondensazione DNA  
dello spermatozoo



**ANFIMISSI**



Nei Mammiferi  $\Rightarrow$  • la fusione dei pronuclei dura circa 12 ore

• cromatina del pronucleo maschile si decondensa

• Pronucleo femminile completa la meiosi

1) migrazione dei due pronuclei e duplicazione del DNA

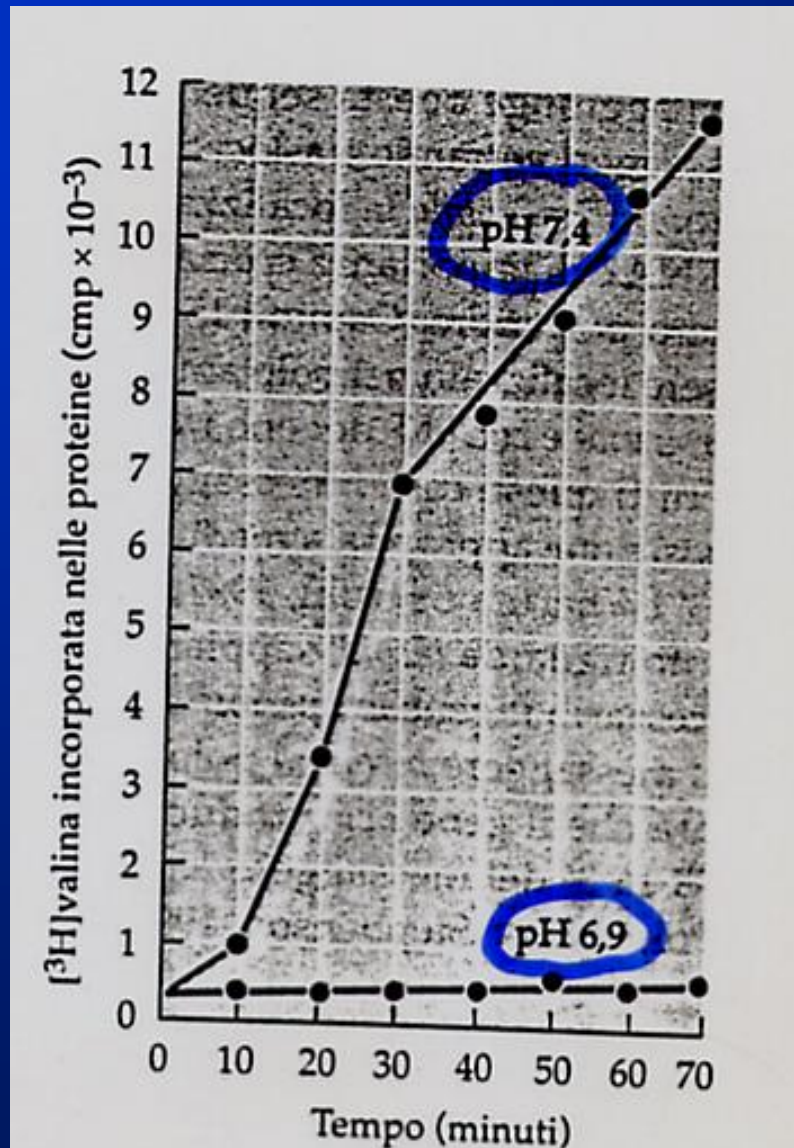
2) Rottura delle membrane nucleari

3) Cromatina si condensa in cromosomi i quali si orientano nella regione equatoriale e contattano il fuso mitotico

a) Manca una reale fusione del materiale genico proveniente dai due gameti dopo la fecondazione

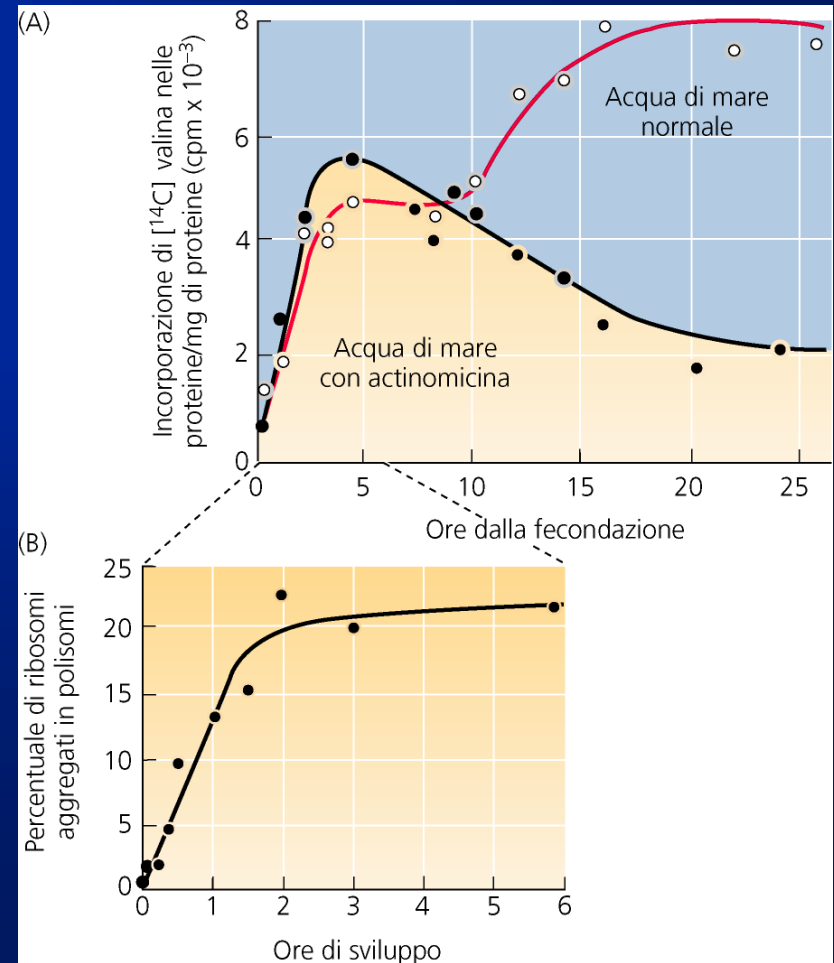
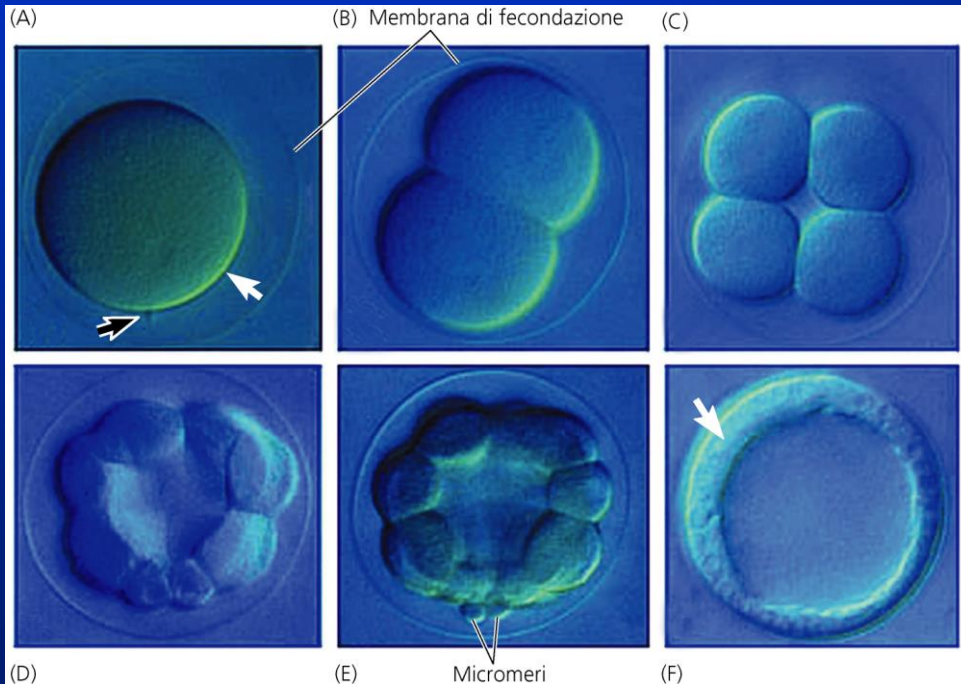
b) Il nucleo zigotico è realmente visibile solo **dopo la prima divisione**

# Attivazione della sintesi proteica

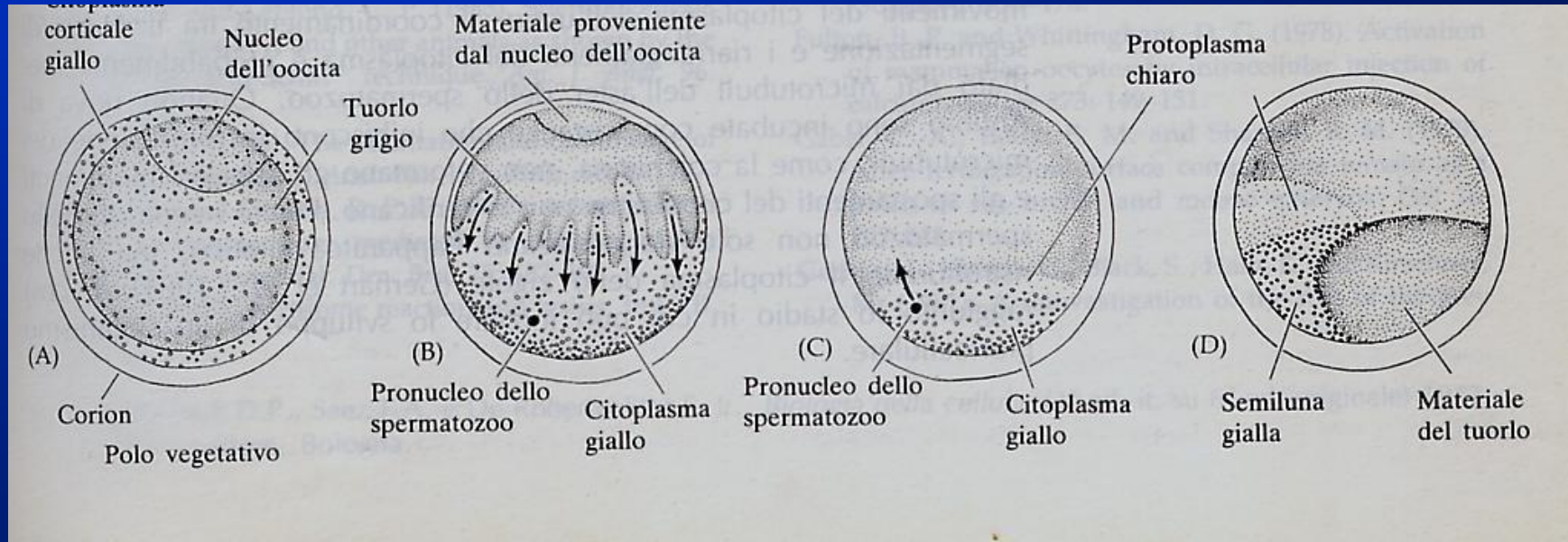


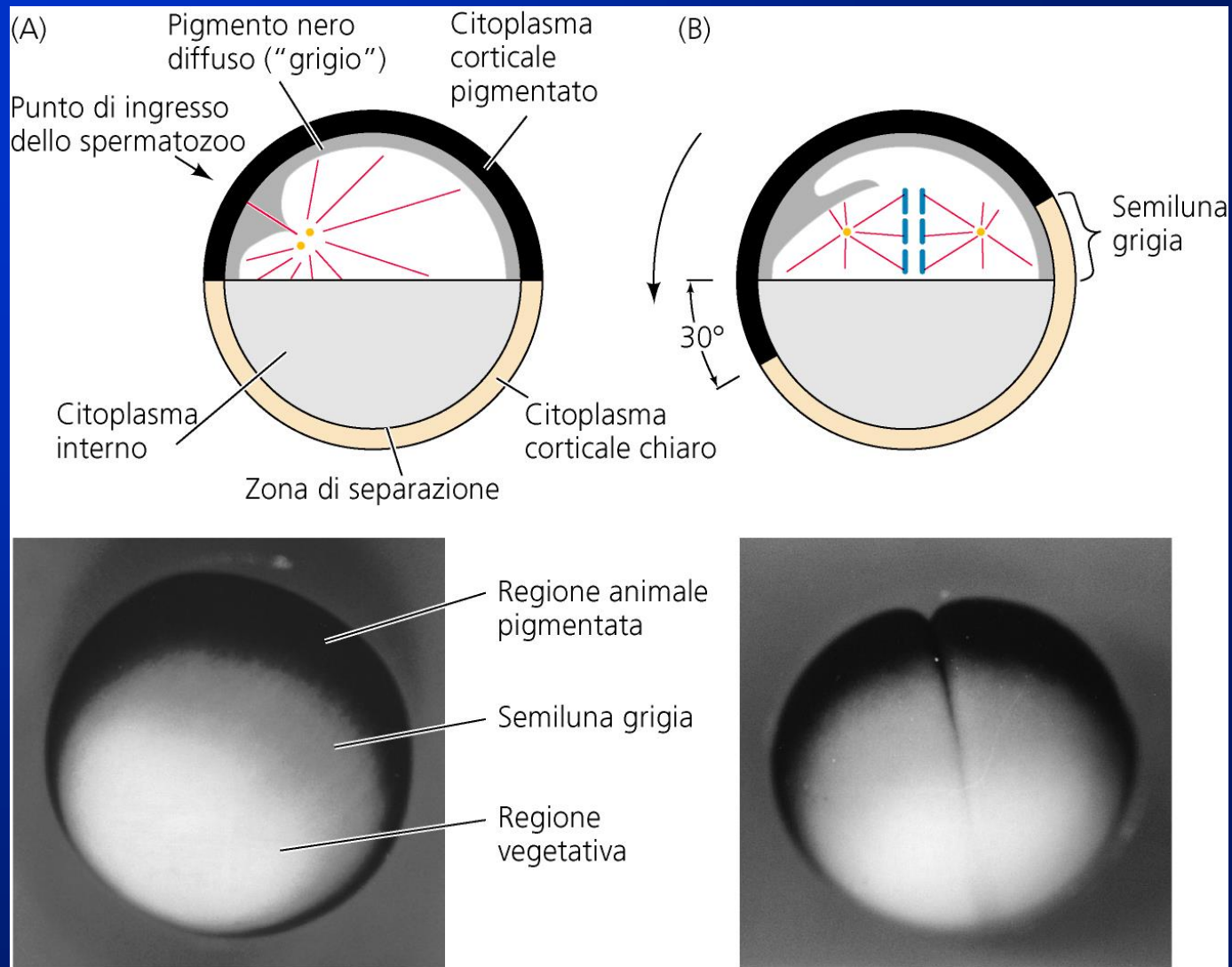
# Actinomicina D- Inibizione della trascrizione (non blocca lo sviluppo embrionale)

## Cicloeximide- Inibizione della traduzione (blocca sviluppo embrionale)



# Riarrangiamenti citoplasmatici





Materiale citoplasmatico della cellula uovo fecondata viene ridistribuito

1. Contenuto del citoplasma non ha più una omogenea distribuzione
2. Ciò che è contenuto nel citoplasma dell'uovo si posiziona all'interno dello zigote lì dove servirà durante le prime fasi dell'embriogenesi

