

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique



Université des Frères Mentouri Constantine  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie Animale

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة والحياة  
قسم بيولوجيا الحيوان

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master**

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Filière : Sciences Biologiques**  
**Spécialité : Génétique moléculaire**

N° d'ordre :  
N° de série :

Intitulé :

---

**Association du polymorphisme d'insertion/délétion du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine avec la perte de grossesse récurrente**

---

**Présenté et soutenu par :** TAIBA Yousra  
BOUGHABA Laila

**Le 09/07/2019**

**Jury d'évaluation :**

**Président :** CHAOUI Naouel (Professeur – UFMC1).

**Encadreur :** CHELLAT Djalila (Maître de conférences A - UFMC1).

**Examineur :** REZGOUN Med Larbi (Maître de conférences A - UFMC1).

**Année universitaire**  
**2018 - 2019**

## *Remerciements*

Au terme de ce travail de recherche, nous remercions aujourd'hui et jusqu'à l'éternité **ALLAH** le tout puissant de nous avoir accordé la foi, la santé, la force, le courage et la volonté de réaliser ce travail et nous lui rendons grâce...

Notre reconnaissance et nos remerciements vont en premier lieu à notre encadreur Dr **REZGOUNE DJ.** Maître de conférences A. à l'Université des frères Mentouri Constantine 1, pour ses précieux conseils scientifiques, son aide, sa gentillesse et surtout sa patience pendant la rédaction de ce travail.

Nos sincères remerciements vont aux membres de jury :  
Nous tenons à remercier très chaleureusement Pr **CHAOUI. N,** professeur à l'Université des frères Mentouri Constantine 1, qui nous a fait le très grand honneur d'accepter de présider ce jury et de juger ce travail.

Nos plus sincères remerciements au Dr **REZGOUNE. ML,** Maître de Conférence A à l'université des frères Mentouri Constantine 1, pour avoir accepté d'examiner notre travail et avoir fait l'honneur de siéger au jury de notre soutenance.  
Nous avons, pendant longtemps, bénéficié de votre savoir, votre manière d'enseigner et votre bienveillance et pour le soutien que vous avez apporté durant toutes ces trois années.

Nos vifs remerciements vont également au Dr **DAOUI. Z,** Maître de conférences B à l'Université Mostefa Ben Boulaïd Batna, nous vous remercions pour votre précieuse aide lors du recrutement des malades, nous lui souhaitons la guérison et la bonne santé.

Nous remercions par l'occasion Pr **ABADI. N** et Pr **SIFI. K** pour nous avoir permis de réaliser l'extraction d'ADN au sein du laboratoire de biologie et génétique moléculaire.

Un grand Merci à madame **DADCI. Y** qui nous a aidés dans la réalisation de l'extraction d'ADN.

# DEDICACES

*Je dédie ce modeste mémoire*

❖ *A mon père **Nasreddine***

*L'être unique et magnifique, mon exemple éternel, la source de mes efforts, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est sacrifié toute sa vie pour me voir réussir. Sans toi ce jour n'aurais jamais arrivé, grâce à toi j'ai appris à être ambitieuse et courageuse, tous les mots de la terre ne suffiront pas à exprimer ma gratitude et mon amour, je t'aime mon papa.*

❖ *A ma très chère maman **Soltana***

*La lumière de mes jours, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur, à celle qui m'a toujours comblé par son amour et ses sacrifices, qui m'a consenti et m'a soutenue aux moments les plus difficiles de ma vie, que je porte dans la prunelle de mes yeux et que je chérisse du plus profond de mon cœur.*

*Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez. Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorde santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.*

❖ *A ma très chère sœur **Imane***

*Merci d'être toujours à mes côtés, de m'avoir aimé, ton aide et tes conseils m'ont permis de surmonter les moments les plus difficiles. Aucune dédicace ne saurait exprimer mon grand amour. Que Dieu te protège et te prête la paix et mille souhaits pour les jours à venir.*

❖ *A mes frères agréables **Abdessatar** et **Seifeddine***

*Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, la reconnaissance et le respect que j'ai pour vous. Vous m'avez aidée, protégée, guidée et conseillée durant toutes mes années d'étude. Je prie Dieu le tout puissant de vous accorder santé, et beaucoup de bonheur.*

*Ma tendre affection et mes sentiments à **Imed** qui m'a soutenu, encouragé et guidé pendant tous les moments difficiles vécus. Que Dieu puisse bénir notre union, accorder vous santé et bonheur.*

*A ma chère amie **Laila**, nous avons vécu cette aventure ensemble, en souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés, je te souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.*

**YOUSRA**

## **Dédicaces**

*Je dédie ce modeste mémoire à :*

### **❖ A mon chère père Djamel**

*À l'homme que j'aime, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui a sacrifié toute sa vie pour que je sois la meilleure dans mes études.*

*Nous ne saurons jamais payer le prix de l'affection que tu nous as portée.*

*Qu'Allah t'accorde longue vie, bonheur et beaucoup plus santé pour goûter aux fruits de l'arbre que tu as planté.*

### **❖ A ma très chère mère Chahra**

*Je tiens particulièrement aujourd'hui à te dire combien ton rôle a été primordial tout au long de mes études et combien je suis fière d'être ta fille.*

*Tu es unique maman, ni le temps, ni les mots, encore moins les phrases ne sauraient suffisans pour te traduire ma reconnaissance. A celle qui m'a toujours comblé son amour et prête à sacrifier pour que nous, tes enfants, réussissent. Tu m'as consenti et m'a soutenue aux moments les plus difficiles de ma vie, je t'aime beaucoup Mama.*

### **❖ A mon fiancé Lamine**

*Qui m'a beaucoup aidé et encouragé, tu es le meilleur exemple de soutien moral qu'une femme puisse rêver d'avoir.*

*A celui que j'aime beaucoup et à toute ma belle famille.*

### **❖ A mes sœurs Imen, Maissa, Anfel et mon frère Oussama**

*Tous les mots ne pourraient exprimer la gratitude, l'amour, la reconnaissance et le respect que j'ai pour vous.*

*Merci pour tout...pour votre amour, la confiance et l'énergie que vous m'avez donnée... merci d'être toujours à mes côtés, vous m'avez toujours encouragé et soutenu dans mes choix, grâce à vous j'ai pu tracer mon chemin et aboutir à mes objectifs.*

*Je prie Dieu le tout puissant de vous accorder santé, et beaucoup de bonheur.*

### **❖ Mon petit frère Siraj**

*Merci pour tous les moments heureux que nous ayons vécus. Que Dieu te protège et t'aide dans tes études et ta vie future*

### **❖ A mon binôme Yousra**

*Pour ma moitié, je te remercie pour ton esprit d'équipe, tu resteras toujours mon amie préférée. Je te souhaite beaucoup de succès dans ta vie et surtout beaucoup de joie et de bonheur.*

### **❖ A mes très chères amies Amel, Chiraz, Roumaissa**

*J'ai le plaisir de dédier à chacune de vous ce modeste travail*

*Merci pour votre présence, votre compréhension, votre patience et vos encouragements.*

*Puisse Dieu vous combler de bonheur, de santé et de réussite.*

**Laila**

## Liste des abréviations

<b>ABRT :</b>	Avortement
<b>AGT :</b>	AnGioTensinogène
<b>Ang I :</b>	Angiotensine I
<b>Ang II :</b>	Angiotensine II
<b>aPL :</b>	antiphospholipides
<b>ASR :</b>	Avortement spontané récurrent
<b>AV :</b>	Annexine V
<b>BET :</b>	Bromure d'ETHidium
<b>DES :</b>	Diéthylstilbestrol
<b>ECA :</b>	Enzyme de conversion de l'angiotensine
<b>EDTA :</b>	Ethylène Diamine Tétra-acetic Acid
<b>EPCR :</b>	Endothelial cell Protein C Receptor
<b>FC :</b>	Fausse Couche
<b>FCP :</b>	Fausse Couche Précoce
<b>FCS :</b>	Fausse Couche Spontanée
<b>FCSR :</b>	Fausse Couche Spontanée Répétée
<b>FCST :</b>	Fausse Couche Spontanée Tardive
<b>FVL :</b>	Facteur V Leiden
<b>GA :</b>	Grossesse Arrêtée
<b>HCG :</b>	Human Chorionic Gonadotropin
<b>IC :</b>	Intervalle de confiance
<b>IMC :</b>	Indice de Masse Corporelle
<b>IRSA :</b>	Avortement Spontané à Répétition Idiopathique
<b>IU :</b>	Infection Urinaire
<b>LCC :</b>	Longueur Cranio-Caudale
<b>LH-RH :</b>	Luteinizing Hormone-Releasing Hormone
<b>MFIU :</b>	Mort Fœtale In Utero
<b>MTHFR :</b>	Méthylène Tétrahydrofolate Réductase
<b>NCBI :</b>	National Center for Biotechnology Information
<b>OMS :</b>	Organisation Mondiale de la Santé
<b>OR :</b>	Odds Ratio
<b>PA :</b>	Pression Artérielle

<b>PAI 1 :</b>	Plasminogen Activator Inhibitor-1
<b>PC :</b>	Protéine C
<b>PCa :</b>	Protéine C activée
<b>PGR :</b>	Perte De Grossesse Récurrente
<b>PS :</b>	Protéine S
<b>RFLP :</b>	Polymorphisme de Longueur de Fragment de Restriction
<b>SA :</b>	Semaine d'Aménorrhée
<b>SAPL :</b>	Syndrome des AntiPhosphoLipides
<b>SDS :</b>	Sodium Dodécyle Sulfate
<b>SGIU :</b>	Sac Gestationnel Intra Utérin
<b>SNPs :</b>	Single Nucleotide Polymorphisme
<b>SOPK :</b>	Syndrome des Ovaires Polykystiques
<b>SRA :</b>	Système Rénine Angiotensine
<b>β2-GPI :</b>	béta2 glycoprotéine I
<b>ST:</b>	SyncytioTrophoblaste
<b>tPA :</b>	Tissue Plasminogen Activator
<b>uPA :</b>	urokinase Plasminogen Activator
<b>VV :</b>	Vésicule vitelline

## Liste des figures

<b>Figure 1 :</b>	Les organes génitaux internes de la femme.....	3
<b>Figure 2 :</b>	Organisation du placenta humain.....	5
<b>Figure 3 :</b>	Concentration maternelle d'œstrogènes, de progestérone et de gonadotrophine chorionique humaine au cours de la grossesse .....	9
<b>Figure 4 :</b>	Principales étiologies des fausses couches spontanées à répétition du 1 <sup>er</sup> trimestre de la grossesse.....	16
<b>Figure 5 :</b>	Représentation schématique du gène de facteur V.....	18
<b>Figure 6 :</b>	Mutations du facteur V associées à une diminution de la réponse plasmatique à la PCa.....	18
<b>Figure 7:</b>	Localisation du gène <i>MTHFR</i> .....	20
<b>Figure 8:</b>	Structure de la PS et de son gène <i>PROSI</i> .....	21
<b>Figure 9 :</b>	Localisation du gène <i>PROC</i> .....	21
<b>Figure 10 :</b>	Synthèse de l'Angiotensine I par la rénine.....	22
<b>Figure 11:</b>	Synthèse de l'angiotensine II par l'ECA.....	22
<b>Figure 12 :</b>	Locus du gène de l' <i>ECA</i> .....	24
<b>Figure 13 :</b>	Polymorphismes génétiques de l' <i>ECA</i> .....	26
<b>Figure 14 :</b>	Répartition des patientes selon les tranches d'âge.....	32
<b>Figure 15 :</b>	Répartition des patientes selon le système ABO.....	33
<b>Figure 16:</b>	Répartition des patientes selon la parité.....	34
<b>Figure 17 :</b>	Répartition des patientes selon l'âge gestationnel.....	35
<b>Figure 18 :</b>	Répartition des patientes selon les ATCD personnels médicaux.....	38
<b>Figure 19 :</b>	Répartition des patientes selon les antécédents familiaux.....	39

## Liste des photographies

<b>Photographie 1 :</b>	Profil électrophorétique des fragments amplifiés par PCR du gène <i>ECA</i> sur gel d'agarose 2%.....	40
-------------------------	---	----



## Liste des tableaux

<b>Tableau 1 :</b>	Les quantités de chaque constituant du milieu réactionnel de la PCR	<b>31</b>
<b>Tableau 2 :</b>	Tableau de contingence .....	<b>33</b>
<b>Tableau 3 :</b>	Répartition des patientes selon les villes d'Algérie.....	<b>35</b>
<b>Tableau 4 :</b>	Répartition des patientes selon le motif d'hospitalisation.....	<b>38</b>
<b>Tableau 5 :</b>	Répartition des fréquences génotypiques du polymorphisme I/D du gène <i>ECA</i> et risque de grossesse arrêtée.....	<b>42</b>

# Table des matières

Remerciements et dédicaces

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

**Introduction..... 1**

## **Etude bibliographique**

<b>I. Généralités.....</b>	<b>3</b>
1. Anatomie histologique de l'utérus.....	3
1.1 Anatomie.....	3
1.2 Histologie.....	3
2. Processus de la fécondation et ses anomalies.....	4
2.1 Mécanisme de la fécondation normale.....	4
2.2 Anomalies de la fécondation.....	4
3. Histo-physiologie du placenta .....	5
3.1 Placenta humain : un organe multifonctionnel .....	5
3.1.1 Fonction d'échange .....	5
3.1.2 Fonction hormonale .....	6
3.1.3 Fonction métabolique .....	6
3.2 Différents types de placenta .....	6
3.2.1 Placenta épithélio-choriale .....	6
3.2.2 Placenta endothélio-choriale .....	7
3.2.3 Placentation hémio-choriale .....	7

## **II. Caractéristiques et comportements de la femme au cours de la grossesse normale**

1. Symptômes de la grossesse.....	7
2. Tests de la grossesse.....	8
3. Modifications physiologiques chez la femme enceinte.....	8
3.1 Modifications hormonales.....	8
3.2 Modifications salivaires.....	9
3.3 Modifications du système cardiovasculaire.....	9
3.4 Modifications utérines.....	9
3.5 Modifications urinaires.....	9
4. Etapes de développement de la grossesse.....	9
4.1 Premier trimestre (les trois premiers mois de la grossesse).....	10
4.2 Deuxième trimestre.....	10
4.3 Troisième trimestre.....	10

## **III. Critères cliniques et les différentes catégories de la grossesse arrêtée**

1.	Définition de la grossesse arrêtée (GA) ou fausse couche spontanée (FCS).....	10
2.	Types de grossesse arrêtée.....	11
2.1	Selon la chronologie.....	11
2.1.1	Fausse couche précoce (FCP).....	11
2.1.2	Fausse couche tardive (FCT).....	11
2.1.3	Mort fœtale in utero (MFIU).....	11
2.2	Selon le caractère répétitif : fausse couche spontanée répétées (FCSR).....	11
2.2.1	Fausse couche précoce à répétition.....	11
2.2.2	Fausse couche tardive à répétition.....	12
3.	Épidémiologie.....	12
4.	Etiologie des grossesses arrêtées.....	12
4.1	Etiologies ovulaires.....	12
4.1.1	Anomalies chromosomiques.....	12
4.1.2	Infection ovulaire.....	12
4.2	Etiologies maternelles.....	13
4.2.1	Age.....	13
4.2.2	IMC.....	13
4.2.3	Malformation utérine.....	13
4.2.4	Pathologie endocriniennes.....	13
4.2.4.1	Dysfonctionnement thyroïdien ou dysthyroïdie.....	13
4.2.4.2	Hyperandrogénie et syndrome des ovaires polykystiques (SOPK).....	13
4.2.4.3	Diabète .....	14
4.2.4.4	Hyperprolactinémie.....	14
4.3	Anomalies immunologiques .....	14
4.3.1	Thrombophilie .....	14
4.3.1.1	Thrombophilies génétiques .....	14
4.3.1.2	Thrombophilies acquises .....	14
4.4	Maladies auto-immunes.....	15
4.5	Hypertension artérielle.....	15
4.6	Anémie.....	15
5.	Diagnostic.....	16

#### **IV. Grossesse arrêtée et génétique**

1.	Gène de la prothrombine (facteur II).....	17
2.	Gène du facteur V Leiden (FVL) ou mutation G1691A.....	17
3.	Gène du PAI1.....	18
4.	Gène de l'Annexine V (haplotype M2).....	19
5.	Gène de la MTHFR.....	19
6.	Gène de la protéine S (PS).....	20
7.	Gène de la protéine C (PC).....	21
8.	Gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA).....	22

8.1	Angiotensine I.....	22
8.2	Angiotensine II.....	22
8.3	Enzyme ECA.....	23
8.3.1	Structure de l'ECA.....	23
8.3.2	Fonction et rôle de l'ECA.....	23
8.3.3	Gène de l'ECA humain.....	24
8.3.4	Polymorphismes génétiques de l'ECA.....	25
8.3.5	Gène ECA et grossesse arrêtée .....	26

### **Patientes et méthodes**

1.	Type d'étude.....	27
1.1	Recrutement des patientes.....	27
1.1.1	Critères d'inclusion .....	27
1.1.2	Critères d'exclusion .....	27
1.2	Recrutement des témoins.....	27
2.	Recueil des données.....	27
3.	Méthodes utilisées.....	28
3.1	Prélèvement sanguin.....	28
3.2	Extraction d'ADN génomique (la technique au NaCl).....	28
3.2.1	Principe de l'extraction d'ADN.....	28
3.3	Génotypage du polymorphisme Insertion/ Délétion de l'ECA.....	28
3.3.1	PCR (Polymerase Chaine Reaction).....	28
3.3.1.1	Préparation du milieu réactionnel (mix) de PCR .....	29
3.3.1.2	Déroulement des cycles de la PCR.....	30
3.3.2	Préparation du gel d'agarose à 2%.....	30
3.3.3	Contrôle des produits de la PCR.....	30
4.	Etude statistique.....	31

### **Résultats et discussion**

1.	Résultats des paramètres cliniques et sociodémographiques.....	32
1.1	Répartition des patientes selon l'âge.....	32
1.2	Répartition des patientes selon l'origine géographique.....	33
1.3	Répartition des patientes selon le groupe sanguin ABO.....	33
1.4	Répartition des patientes selon les antécédents obstétricaux.....	34
1.4.1	Parité.....	34
1.4.2	Age gestationnel.....	35
1.4.3	Motif d'hospitalisation.....	35
1.5	Répartition des patientes selon les antécédents médicaux.....	37
1.5.1	Antécédents personnels.....	37
1.5.2	Antécédents familiaux.....	38
2.	Résultats de l'étude moléculaire (profils génotypiques du polymorphisme insertion/ délétion de l'ECA).....	39
2.1	Répartition des fréquences génotypiques et alléliques du gène <i>ECA</i>	

chez les patientes et les témoins.....	40
<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>44</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>46</b>
<b>Annexes</b>	
<b>Résumé en français</b>	
<b>Résumé en anglais</b>	
<b>Résumé en arabe</b>	

La grossesse arrêtée (GA) ou la fausse couche spontanée (FCS) est un événement qui peut être particulièrement difficile à vivre, voire traumatisant, pour les femmes et leurs partenaires et peuvent être associés à un traumatisme psychologique considérable.

On parle de grossesse arrêtée, en cas d'un arrêt spontané de la grossesse ou perte du produit de conception avant 180 jours de grossesse soit 28 semaine d'aménorrhée (SA). Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS, 1968), l'avortement est défini comme l'interruption de la grossesse avant que le fœtus ne soit viable, c'est-à-dire capable de mener une vie extra utérine indépendante, soit à un âge gestationnel de 20-22 semaines ou pesant moins de 500g. Selon le moment de la fin de la grossesse, la fausse couche spontanée peut être classé en tant que fausse couche précoce (<12 semaines) et fausse couche tardive (>12 semaines) (Zhou et al., 2016). Elle représente la complication la plus fréquente de la grossesse, et la première cause d'urgence en gynécologie (Wilcox et al., 1988). En Algérie, la fréquence des fausses couches (FC) est mal connue (une grossesse sur dix se terminerait par une fausse couche) (Sennaoui et al., 2015).

L'étiologie de la FCS est toujours peu évidente et il y a beaucoup de controverses quant à son diagnostic et son traitement. Il s'agit d'un désordre multifactoriel impliquant l'action réciproque de facteurs génétiques, maternels et environnementaux. Le nombre de gènes impliqués dans cette pathologie est en nette augmentation. Jusqu'au présent, plus de 30 gènes putatifs de l'immunité et de l'angiogenèse impliqués dans la FCS ont été identifiés (Aslbahar et al., 2018).

L'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) est un composant clé du système rénine angiotensine (SRA), qui peut convertir l'angiotensine I (Ang I) en un peptide actif appelé l'angiotensine II (Ang II). La découverte du polymorphisme I/D du gène *ECA* a été rapportée pour la première fois par Rigat *et al.*, 1990. Ce polymorphisme affecte fortement le taux plasmatique de l'ECA (Rigat, 1990). Plusieurs études ont analysé l'implication de ce single Nucleotide polymorphisme (SNP) dans la survenue d'une grossesse arrêtée.

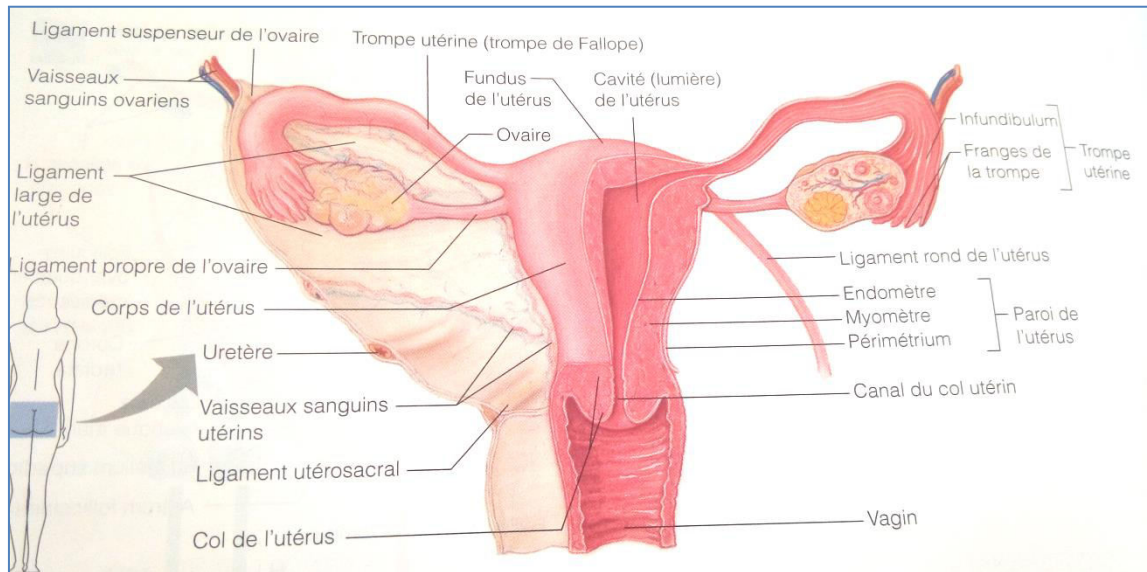
Dans ce travail de recherche nous avons assigné comme objectifs :

- faire une recherche bibliographique et rédiger un document de synthèse sur la grossesse arrêtée en mettant l'accent sur l'épidémiologie, l'étiologie ainsi que la génétique.

- effectuer une enquête rétrospective auprès du service de gynéco-obstétrique afin de réaliser une étude statistique sur certains paramètres.
- réaliser une analyse moléculaire du polymorphisme I/D du gène de l'ECA pour rechercher une éventuelle implication de ce dernier dans la survenue de ce type de pathologie.

## I. Généralités

L'utérus est un organe appartenant au système reproducteur de la femme. Il possède la grosseur et la forme d'une poire renversée. Il est situé dans le bassin, entre la vessie et le rectum (Figure 1). Il constitue avec le vagin, les trompes et les ovaires, les organes génitaux internes de la femme (Tortora et al., 2001). Cet organe est le siège de la menstruation, destiné à accueillir, à héberger et à nourrir l'ovule fécondé. Ainsi, il participe au développement du fœtus pendant la gestation et l'accouchement (Elaine et al., 2008).



**Figure 1** : Les organes génitaux internes de la femme (Elaine et al., 2008).

## 1. Anatomie histologique de l'utérus

### 1.1 Anatomie

L'utérus se divise en trois parties anatomiques:

- une partie supérieure arrondie, le fundus de l'utérus.
- une partie centrale, le corps de l'utérus.
- une partie inférieure étroite qui s'ouvre dans le vagin et l'isthme, le col de l'utérus, qui a une forme cylindrique ou conique, orienté vers l'arrière et le bas (Tortora et al., 2001).

### 1.2 Histologie

La paroi utérine épaisse d'environ 1 cm comprend trois parties :

- **tunique interne** appelée endomètre, très vascularisée qui est sous la dépendance des fluctuations hormonales du cycle menstruel, est en constant remaniement, elle se transforme en caduque durant la grossesse (Sadou, 2010).



- **tunique externe** appelée périmétrium, est une séreuse qui fait partie du péritoine viscéral, composé d'épithélium pavimenteux et de tissu conjonctif.
- **tunique musculaire** appelée myomètre, cette couche moyenne épaisse est circulaire. Pendant l'accouchement les contractions produites par le myomètre en réponse à l'ocytocine favorisent l'expulsion du fœtus de l'utérus (Tortora et al., 2007 ; Sadler et al., 2018).

## 2. Processus de la fécondation et ses troubles

La fécondation est le résultat de la pénétration du spermatozoïde dans l'ovule mûr, puis la fusion des éléments nucléaires et cytoplasmiques des deux gamètes qui donne un œuf diploïde et déclenche le développement embryonnaire (Philippe, 1974). Cette rencontre est facilitée par des attractants chimiques produits par l'ovocyte. Ce dernier peut être fécondé pendant seulement 12 à 24 heures après l'ovulation. Elle se fait en général dans la partie distale des trompes de Fallope.

### 2.1 Mécanisme de la fécondation normale

Il comporte trois (3) étapes :

- le spermatozoïde se fixe à la zone pellucide grâce à des interactions entre des protéines de la zone pellucide et les enzymes puissantes de leur acrosome au niveau de la tête des spermatozoïdes, un phénomène appelé réaction acosmique (Daniel et al., 2011).
- la fusion des deux membranes provoque également une reprise d'activité de l'ovocyte II qui termine alors sa deuxième division méiotique.
- la dernière division méiotique crée un globule polaire secondaire qui est expulsé. A cet instant, les 23 chromosomes du spermatozoïde rejoignent les 23 chromosomes de l'ovocyte, ce qui produit un noyau zygote avec un lot complet de matériel génétique (Dee unglaub, 2007).

### 2.2 Anomalies de la fécondation

La 1<sup>ère</sup> cellule diploïde, en puissance de créer l'individu parfait ou zygote est tout de suite suivie de la 1<sup>ère</sup> mitose. Une anomalie à ce stade dans la répartition chromosomique peut être à l'origine de malformations ovulaires souvent suivies d'avortement.

La fréquence des aberrations chromosomiques décroît au cours de la grossesse, la plus part d'entre elles étant rapidement létale. Ainsi, la fréquence de ces aberrations selon l'âge du zygote peut être résumée comme suit :

- 20% d'aberration chromosomique entre la 5<sup>ème</sup> - 8<sup>ème</sup> semaine
- 7% entre les 9<sup>ème</sup> - 12<sup>ème</sup> semaines
- 5% entre les 13<sup>ème</sup> - 16<sup>ème</sup> semaines
- 0,5% de la 17<sup>ème</sup> semaine à terme.

Au cours des avortements précoces, il s'agit surtout d'anomalie chromosomique de nombre. 55% de trisomies, 20% de triploïdes, 15% de monosomies X et 5% de tétraploïdes. Au cours des avortements tardifs, ce sont beaucoup plus des monosomies X (Philippe, 1984).

### 3. Histophysiologie du placenta

Le placenta humain est un organe multifonctionnel indispensable au développement embryonnaire chez les mammifères, qui résulte de la prolifération du trophoblaste (Daniel et al., 2011). Il constitue l'interface entre le sang maternel, qui circule dans les chambres intervilleuses (Figure 2) et le sang fœtal qui transite dans les vaisseaux du cordon ombilical. Il possède un diamètre moyen d'environ 22 cm, son poids est de 450 g, son épaisseur est 2,5 cm au centre du disque placentaire, l'unité structurale et fonctionnelle du placenta humain est la villosité choriale (Benirschke et al., 1990 ; Daniel et al., 2011).

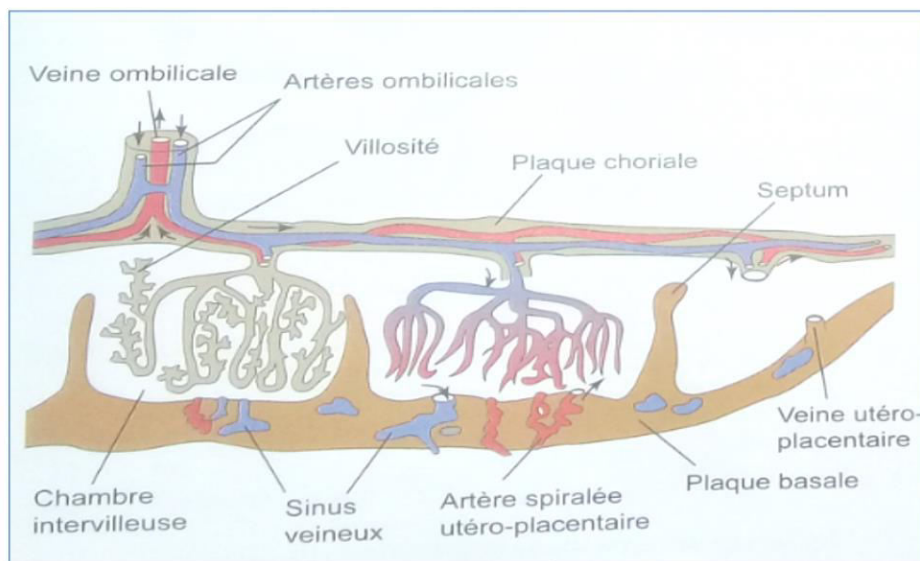


Figure 2 : Organisation du placenta humain (Daniel et al., 2011).

#### 3.1 Placenta humain : un organe multifonctionnel

##### 3.1.1 Fonction d'échange

La fonction fondamentale du placenta est de permettre les échanges entre la mère et le fœtus au cours de la grossesse, qui est intimement liée à la croissance fœtale, dont celui de l'eau, l'oxygène et du dioxyde de carbone ainsi que des nutriments nécessaires au fœtus

(Saint-Dizier et al., 2014). Ceux-ci impliquent divers mécanismes, et sont favorisés par la présence de nombreuses microvillosités à la surface du syncytiotrophoblaste (ST) (Alsat et al., 1999).

### **3.1.2 Fonction hormonale**

Le placenta humain est caractérisé par une fonction endocrinienne majeure et les hormones placentaires ont des effets divers sur la physiologie et le comportement maternels (Petraglia et al., 2006). Le ST sécrète l'HCG, hormone indispensable au déroulement de la grossesse chez la femme, puisqu'elle permet la transformation du corps jaune cyclique en corps jaune gravidique (Outre son rôle dans la stimulation de la stéroïdogénèse, l'HCG joue un rôle important dans la différenciation du trophoblaste humain), celui-ci assure le maintien de la sécrétion de progestérone ovarienne durant les 6 premières semaines de la grossesse (Alsat et al., 1999). Ces hormones peptidiques placentaires constituent donc des marqueurs sériques pour la détection de maladies génétiques fœto-placentaires, notamment dans le cas de la trisomie 21 (Muller et al., 2000).

### **3.1.3 Fonction métabolique**

Le glucose est le principal substrat du métabolisme placentaire et fœtal, il traverse le placenta par diffusion facilitée (Tarrade et al., 2014). Les hormones placentaires modulent le métabolisme maternel afin d'augmenter les concentrations de glucose sanguin maternel et d'optimiser le transfert (Burton et al., 2015). Les acides gras maternels peuvent donc réguler leur propre transport placentaire ainsi que leur fonction placentaire via plusieurs facteurs de transcription activés par les acides gras. Ces derniers sont essentiels à la croissance et au développement du fœtus (Duttaroy, 2009).

## **3.2 Différents types de placenta**

Différents critères sont utilisés pour classer les placentas : la morphologie, l'organisation des couches cellulaires et les structures histologiques séparant les sangs maternel et fœtal (Tarrade et al., 2014).

**3.2.1 Placenta épithélio-choriale** : le trophoblaste ou chorion fœtal est au contact de l'épithélium utérin, quasiment intact. L'invagination des capillaires dans les épithéliums trophoblastique et maternel réduit la distance entre les circulations fœtales et maternelles (Malassiné et al., 2000).

**3.2.2 Placenta endothélio-choriale :** l'invasion du trophoblaste entraîne une destruction de l'épithélium utérin. Le trophoblaste se présente sous la forme d'une structure à trois couches différenciées en cyto- et/ou syncytiotrophoblaste.

**3.2.3 Placentation hémochoriale :** la destruction de l'épithélium utérin et des vaisseaux maternels par le trophoblaste qui constitue donc la seule séparation entre sang maternel et tissus embryonnaires. Cette placentation se trouve chez les primates et chez les rongeurs (Malassine et al., 2000).

## **II. Caractéristiques et comportements de la femme au cours de la grossesse normale**

La grossesse est l'état de la femme enceinte, une période comprise entre la conception (fécondation de l'œuf vers le 14<sup>ème</sup> jour du cycle), et l'accouchement. Pendant laquelle l'embryon, puis le fœtus se développent (Alexander et al., 2009). Elle dure normalement 38 semaines, à partir de la date de l'ovulation et de la fécondation ou approximativement 40 semaines en partant du premier jour du cycle menstruel (McGeown, 2002).

### **1. Symptômes de la grossesse**

Divers signes sont susceptibles de signaler le début de la grossesse, qui diffèrent d'une femme et d'une grossesse à l'autre :

- l'absence de menstruation ou aménorrhée est le premier signe physique de la grossesse mais ce n'est pas facile si les règles sont irréguliers ou après l'arrêt de la pilule (Lansac et al., 2011).
- plus de 80 % des femmes enceintes souffrent de nausées qui pourraient être dues au pic initial d'HCG ou de vomissements, ainsi la constipation (McGeown, 2002 ; Chassagnol-Clausade, 2008). Ces symptômes surviennent le plus souvent aux alentours de la cinquième semaine de grossesse et disparaissent à la fin du premier trimestre (Derbré et al., 2014).
- les troubles du sommeil durant le premier trimestre de la grossesse, la fatigue s'accroît en raison de l'imprégnation hormonale, entraînant une envie irrésistible de dormir (Clere, 2019).

## 2. Les tests de la grossesse

Pour confirmer la grossesse la femme doit réaliser des examens complémentaires, trois méthodes sont disponibles :

- tests urinaires de grossesse : basés sur la détection colorimétrique de l'hormone HCG dans les premières urines du matin.
- dosage plasmatique de l'HCG.
- l'échographie pelvienne (Lansac et al., 2011).

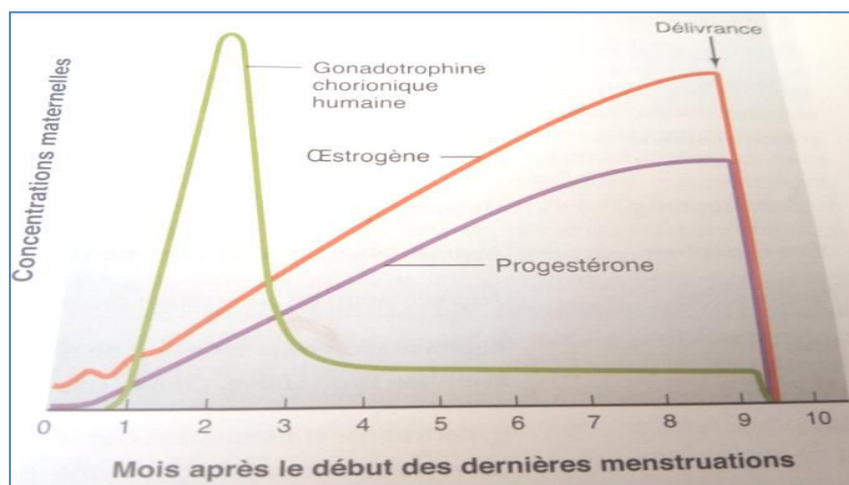
## 3. Modifications physiologiques chez la femme enceinte

La grossesse étant une période de modifications endocriniennes importantes, de variations hormonales, métaboliques et vasculaires, elles sont observées chez la plupart des femmes enceintes, mais avec une intensité variable d'une parturiente à l'autre et même d'une grossesse à l'autre chez une même femme (Muallem et al., 2006).

### 3.1 Modifications hormonales

Pour que la grossesse se poursuive, il faut que les concentrations plasmatiques de progestérone et d'œstrogènes soient élevées (Eric et al., 2013).

A la 6<sup>ème</sup> semaine après la fécondation, la sécrétion de l'HCG atteint un pic puis s'abaisse ce qui provoque une régression partielle du corps jaune, mais les concentrations de progestérone et d'œstrogènes continuent à s'élever car le placenta lui-même devient le site principal de la synthèse des hormones sexuelles, du 3<sup>ème</sup> mois à la fin de la grossesse (McGeown, 2002).



**Figure 3** : Concentration maternelle d'œstrogènes, de progestérone et de gonadotrophine chorionique humaine au cours de la grossesse (Eric et al., 2013).

### **3.2 Modifications salivaires**

La grossesse est associée à des modifications salivaires, à la fois quantitatives et qualitatives. Une augmentation du taux d'œstrogènes est notée dans la salive alors que le pH et le pouvoir tampon diminuent, celui-ci favorise le développement d'une flore pathogène acidophile entraînant souvent l'augmentation de l'indice carieux (Steinberg et al., 2013).

### **3.3 Modifications du système cardiovasculaire**

La caractéristique essentielle des modifications cardio-vasculaires est la vasodilatation artérielle très précoce qui entraîne l'augmentation du débit cardiaque de 50%. Les troubles du rythme cardiaque peuvent être déclenchés ou exacerbés par la grossesse et peuvent représenter un risque aussi bien pour la mère que pour le fœtus, mais la plupart de ces troubles qui surviennent chez la femme ne sont pas associés à une cardiopathie sous-jacente (Fennira et al., 2011).

### **3.4 Modifications utérines**

Pendant les premières semaines de la grossesse, la muqueuse subit une **hypertrophie**.  
Au 4<sup>ème</sup> mois de la grossesse :

- la muqueuse utérine cesse de se développer et s'atrophie jusqu'au terme.
- le muscle utérin subit aussi une hypertrophie qui provoque une augmentation de volume de placenta (Alain et al., 2007).

### **3.5 Modifications urinaires**

L'augmentation de la taille des reins de 1 cm environ ainsi que leur poids + 45 g , dues à l'augmentation du secteur interstitiel et du volume vasculaire, ainsi l'augmentation du débit rénal (+60%) et l'hyper-filtration glomérulaire (+40%) entraînent une diminution du taux de créatinine et d'urée plasmatique (Chaliha et al., 2002 ; Belenfant et al., 2004). Ces modifications sont susceptibles d'entraîner différentes pathologies urologiques, une immunodépression physiologique favorisant la présence de bactéries dans l'appareil urinaire : c'est l'infection urinaire (IU), qui peuvent altérer la fonction rénale et de menacer la vie du fœtus et de la mère, mais aussi des bouleversements hormonaux inhérents à la grossesse qui contribuent à une dilatation urétérale et une stase urinaire (Briggs et al., 2004).

## **4. Etapes de développement de la grossesse**

La grossesse humaine est subdivisée de diverse façon en fonction des modifications qui se produisent en voie du développement qui s'exprime en trimestre, période de trois mois chacune, soit 13 semaines embryonnaires (Arne et al, 2004).

- **Période de l'œuf** (de la fécondation à la fin de la troisième semaine)
- **Période embryonnaire** (du début du quatrième mois à la fin de sixième mois)
- **Période fœtale** (du début du septième mois à la naissance) (William et al., 2014).

### 4.1 Premier trimestre

Est une étape critique dans la vie du bébé, et une période de croissance et de développement rapide, caractérisée par une période de 12 semaines, fœtus de 5-8 cm, et un poids de 10-45g. A ce stade de développement, tous les organes essentiels externes (les oreilles, le nez, les yeux) et internes (la colonne vertébrale, le tube digestif et le système nerveux) sont installés et fonctionnels (Schunke et al., 2005).

### 4.2 Deuxième trimestre

À partir de la 13 SA, l'embryon s'appelle le fœtus (période fœtale) (Arne et al., 2004). Elle est caractérisée par une croissance rapide du corps, la face prend un aspect plus humain, tandis que la différenciation tissulaire devient moins active. Pendant le quatrième mois, le fœtus est d'environ 15 cm, son poids augmente peu. Au cours du sixième mois, le fœtus mesure 37 cm et pèse 1 kg, avec un aspect ridé en raison de la pauvreté en tissu conjonctif. En effet, l'appareil respiratoire et le système nerveux central ont acquis une différenciation suffisante (Langman et al., 1976).

### 4.3 Troisième trimestre

Le développement fœtal a progressé au point que le fœtus a une probabilité de survivre hors du corps de la mère, le poids final pour un nouveau-né est de 3,4 kg donc il est prêt pour sa transition de l'utérus vers le monde extérieur (Singh et al., 2017).

## III. Critères cliniques et les différentes catégories de la grossesse arrêtée

### 1. Définition de la grossesse arrêtée ou fausse couche spontanée

La FCS est l'arrêt spontané ou l'expulsion d'une grossesse, dont l'embryon ne présente plus de signe d'évolutivité et de vie (activité cardiaque et mouvements actifs), avant le terme de 28 SA (Le Jeune, 2006).

## **2. Types de grossesse arrêtée**

### **2.1 Selon la chronologie**

#### **2.1.1 Fausse couche précoce (FCP)**

Le terme de grossesse arrêtée précoce comprend toute grossesse présentant un arrêt de développement de l'embryon, soit par stagnation de la taille du sac gestationnel, soit par disparition de l'activité cardiaque (Véronique, 2007). Cliniquement décelables avant 14 SA, date de l'échographie qui permet la mesure de la nuque. Grâce à cet examen peuvent être repérées les grossesses arrêtées non symptomatiques (Diancoumba, 2008).

#### **2.1.2 Fausse couche tardive (FCT)**

C'est l'expulsion spontanée au 2<sup>ème</sup> trimestre de la grossesse d'un fœtus entre 14 et 22 SA. Elle se caractérise par une diminution des causes ovulaires et une forte augmentation des causes mécaniques : malformations utérines et béance cervicale ainsi que des causes infectieuses (Capmas et al., 2014 ; Delabaere et al., 2014) .

#### **2.1.3 Mort fœtale in utero (MFIU)**

Correspond au« fœtus mort-né ». Cette notion de décès in utero est confirmée par l'absence de mouvements respiratoires du fœtus ou de battements cardiaques, ou de perception de battements du cordon, ou de contractions volontaires des muscles (OMS, 2004). Selon la classification internationale des maladies (ICM) peuvent être distinguées : des MFIU tardives (supérieures à 1000 g, ou après 28 SA), des MFIU précoces (entre 500 g et 1000 g ou entre 22 SA et 28SA) (Lawn et al., 2011).

### **2.2 Selon le caractère répétitif : Fausse couche spontanée répétée (FCSR)**

Touche 1 à 2% des couples désirant une grossesse : cette fréquence augmente avec le nombre d'accidents : 17 à 35% après deux FCS, 25 à 46 % après trois FCS et supérieur à 50% après 6 FCS. Elles sont associées à un nombre plus élevé d'anomalies chromosomiques de l'embryon et à des anomalies biologiques chez la mère (Ogasawara et al., 2000). La fausse couche spontanée répétée peut être classé en deux catégories :

#### **2.2.1 Fausse couche précoce à répétition**

Trois avortements successifs qui sont isolés du premier trimestre de la grossesse, c'est-à-dire durant les 15 premières SA représentent une situation fréquente puisqu'ils compliquent 15% des grossesses mais seulement 1 à 2% des couples concernés par des pertes fœtales répétées précoces. Plusieurs facteurs sont à l'origine de ce type de FC : un taux élevé d'anomalies chromosomiques, principalement des trisomies, des triploïdies, des monosomies



et des anomalies chromosomiques de l'œuf (Boue et al., 1976 ; Simon et al., 1998; Stephenson et al., 2002 ; Kupfermanc, 2003).

### **2.2.2 Fausse couche tardive à répétition**

Elle comporte trois avortements spontanés tardifs successifs et sans grossesse intercalaire (Diancoumba, 2008).

## **3. Épidémiologie**

La survenue d'une FC est la complication la plus fréquente d'une grossesse : son taux est estimé de 10 à 20% des grossesses (Philippe, 2001). C'est un taux probablement sous-estimé car beaucoup de pertes de grossesses précoces surviennent avant le diagnostic de grossesse, et parfois avant le retard des menstruations, et constitue une entité que l'on peut englober dans les échecs d'implantation ou de nidation (Delabaere et al., 2014). Les grossesses arrêtées ont généralement lieu dans les dix premières semaines suivant la fécondation :

- 31% des grossesses sont avortés après implantation.
- 10 à 15% des femmes enceintes font une fausse couche entre 5 et 8 SA.
- 70% des œufs fécondés sont avortés avant 6 SA
- 1 femme sur 4 saigne au premier trimestre (Sennaoui, 2015).

## **4. Etiologie des grossesses arrêtées**

### **4.1 Etiologies ovulaires**

#### **4.1.1 Anomalies chromosomiques**

Les anomalies chromosomiques représentent la cause la plus fréquente de FCS sporadiques, et elles sont retrouvées dans 50% avant 10 SA à 70% avant 6 SA, et 5% au delà de 12 SA du premier trimestre (soit 5 à 10% de toutes les grossesses). Elles sont mises en évidence par culture puis caryotype du trophoblaste de la GA, il s'agit essentiellement d'accidents de la méiose (trisomies, monosomies) ou de la fécondation (triploïdie), le risque d'apparition de ces anomalies dépend de l'âge maternel après l'âge de 30 ans et du vieillissement des gamètes (Dreyfus et al., 1998).

#### **4.1.2 Infection ovulaire**

Les pathologies infectieuses présentent un risque spécifique car elles peuvent entraîner un arrêt spontané de la grossesse. Les agents en cause sont nombreux et variés tels que : les

virus (rubéole, herpès..), les bactéries, un parasite ou un autre micro-organisme (Griebel et al., 2005) .

## **4.2 Etiologies maternelles**

### **4.2.1 Age**

Après 35 ans, l'âge maternel est directement lié à un risque d'une augmentation d'anomalies chromosomiques, notamment l'aneuploïdie embryonnaire (Delabaere et al., 2014).

### **4.2.2 IMC**

L'obésité chez la femme enceinte est un problème majeur responsable des complications obstétricales maternelles et fœtales, la prévalence des patientes obèses varie entre 6 et 25 % (Thai et al., 1992 ; Heude et al., 2003).

### **4.2.3 Malformations utérines**

La malformation utérine est la source de grossesse à risque et de complications obstétricales. Souvent découvertes dans le cadre d'un bilan de fertilité, de FC à répétition ou encore d'un accouchement prématuré. L'incidence des malformations utérines congénitales dans la population féminine est estimée à 3-4%. Beaucoup d'entre elles resteront asymptomatiques lors d'une grossesse (Raga et al., 1997 ; Nahum et al., 1998).

Il existe des malformations utérines congénitales tels que : les utérus cloisonnés qui sont les plus fréquents, ou acquises (fibromes utérins sous muqueux, synéchies utérines) qui peuvent être diagnostiquées suite à une fausse couche, ils peuvent entraîner des fausses couches spontanées récidivantes, des contractions précoces ou une présentation fœtale anormale (Saravolos et al., 2008 ; Ramanah et al., 2009).

### **4.2.4 Pathologie endocrinienne**

#### **4.2.4.1 Dysfonctionnement thyroïdien ou dysthyroïdie**

Se traduit par un trouble de la sécrétion des hormones thyroïdiennes qui est corrélé avec une augmentation du risque de FCS précoces du 1<sup>er</sup> trimestre (van den Boogaard et al., 2011).

#### **4.2.4.2 Hyperandrogénie et syndrome des ovaires polykystiques (SOPK)**

Ce syndrome est retrouvé, selon les critères, chez 8 à 10% des patientes présentant des FCS à répétition (Cocksedge et al., 2009).

#### **4.2.4.3 Diabète**

Un diabète préexistant à la grossesse et mal équilibré (hémoglobine glyquée > 7,5 %) est responsable de FCS précoces avec un risque multiplié par quatre par rapport aux patientes diabétiques bien équilibrées (Temple et al., 2002).

#### **4.2.4.4 Hyperprolactinémie**

Son implication dans les FCS à répétition reste discutée, l'hyperprolactinémie étant avant tout une cause d'infertilité (Hirahara et al., 1998).

### **4.3 Anomalies immunologiques**

#### **4.3.1 Thrombophilies**

Désigne l'état de patients qui présentent une prédisposition particulière aux thromboses soit au niveau veineux, soit une hypercoagulabilité du sang. Les thrombophilies jouent un rôle dans la survenue des FCSR du fait des modifications vasculaires morphologiques observées en début de grossesse. Ainsi, les bouchons trophoblastiques, toute augmentation du pouvoir thrombogène des femmes enceintes conduira à la formation d'un caillot et à l'interruption de la grossesse. Les facteurs de risque biologiques pro thrombotiques à l'origine de FCS sont héréditaires et/ou acquis de l'hémostase (Rey et al., 2003 ; Merviel et al., 2012).

##### **4.3.1.1 Thrombophilies génétiques**

Un facteur de risque génétique prothrombotique d'origine maternelle peut être une cause de FCS à partir de la 12<sup>ème</sup> ou 13<sup>ème</sup> semaine de gestation (15 SA) puisque c'est à partir de ce moment que le sang maternel apportant les nutriments au fœtus commence à circuler dans les espaces intervillositaires du placenta. Les causes héréditaires incluent les déficits en inhibiteurs naturels de la coagulation (antithrombine III, protéine C, protéine S) relativement rares. Soit à des mutations des gènes : de la méthylène-tétrahydrofolate réductase MTHFR (C677T ou A1298C), de la prothrombine (G20210A) ou du facteur V (mutation Leiden) (Gris et al., 1999; Many et al., 2002).

##### **4.3.1.2 Thrombophilies acquises**

Le syndrome des antiphospholipides (SAPL) est une cause de FCS et du FCS à répétition avec une prévalence d'environ 10-15%. Il est défini par l'association de manifestations cliniques thrombotiques (thromboses veineuses, artérielles, manifestations obstétricales, endocardite aseptique, thrombopénie...) et la présence persistante à 12 semaines

d'intervalle d'anticorps antiphospholipides (aPL) : lupus anticoagulant et/ou anticorps anticardiolipine et/ou anticorps anti bêta2 glycoprotéine I ( $\beta$ 2-GP1) (Lassere et al., 2004 ; Derksen et al., 2008; Costedoat-Chalumeau et al., 2012). Les aPL perturbent l'invasion trophoblastique et empêchent l'implantation embryonnaire dans l'endomètre (Rai et al., 1995 ; Sarig et al., 2002).

#### **4.4 Maladies auto-immunes**

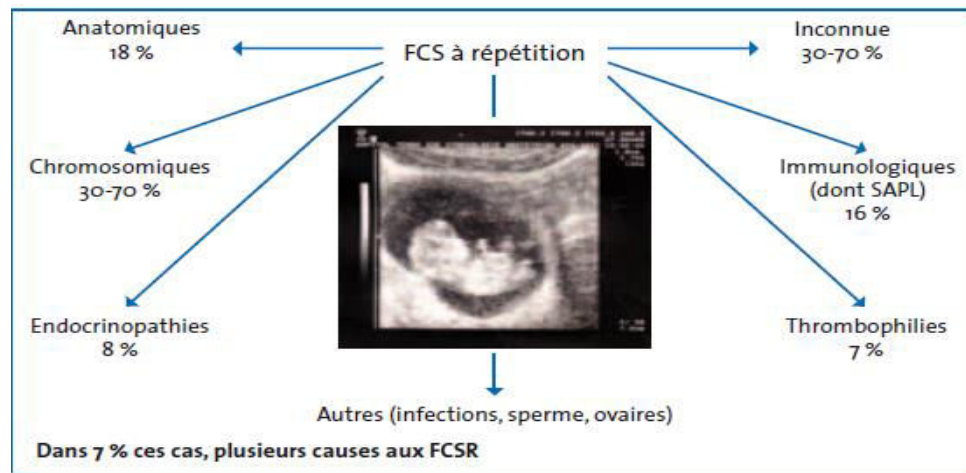
L'auto-immunité est associée à une augmentation du risque de FCS. Il s'agit essentiellement des lupus érythémateux disséminés, la myasthénie, la sclérose en plaque et le SAPL. Ces maladies peuvent avoir un impact négatif sur la grossesse, toute maladie auto-immune dans sa forme sévère implique une grossesse à risque et un suivi obstétrical hospitaliser (Figure 3) (Makino, 2002).

#### **4.5 Hypertension artérielle (HTA)**

L'HTA gravidique durant la grossesse est définie par une pression artérielle systolique (PAS) de 140 mm Hg et/ou une pression artérielle diastolique (PAD) de 90mmhg. C'est l'insuffisance placentaire qui est responsable de l'HTA, elle apparaît au 3<sup>ème</sup> trimestre et touche environ 8% de toutes les grossesses et ainsi, elle est l'une des causes majeures de mortalité et de morbidité maternelles et fœtales dans le monde entier (Gifford et al., 2000).

#### **4.6 Anémie**

C'est une situation très fréquente pendant la grossesse qui se caractérise par un manque de globules rouges dans le sang, ou carence en fer, elle se définit par l'OMS comme une baisse de teneur en hémoglobine (Hb) inférieure à 11 g/dl, elle survient généralement de la vingtième semaine de grossesse jusqu'au deuxième trimestre de grossesse (Anemia Working Group, 1999). Les conséquences de ces anémies gravidiques sur la santé de l'enfant peut dans certains cas augmenter les risques de prématurité et de faible poids du bébé (Allen, 1997 ; Zhou et al., 1998).



**Figure 4 :** Principales étiologies des fausses couches spontanées à répétition du 1<sup>er</sup> trimestre de la grossesse (Merviel et al., 2012).

## 5. Diagnostic

Le diagnostic de la grossesse arrêtée se repose principalement sur l'échographie. Celle-ci permet d'affirmer la localisation de la grossesse, ainsi que l'âge gestationnel et son évolutivité. Il existe des critères échographiques précis permettant d'affirmer la grossesse arrêtée (Lavoué et al., 2013) :

- si la moyenne des mesures orthogonales du sac gestationnel par échographie endovaginale est d'au moins 25 mm, sans qu'un embryon soit visualisé permet d'affirmer l'arrêt de grossesse (Doubilet et al., 2013).
- la non-visualisation de l'activité cardiaque pour l'embryon dont la longueur craniocaudale (LCC) est supérieure ou égale à 7mm, le contrôle échographique à 7 jours est recommandé et l'arrêt de la grossesse est confirmé.
- un contrôle échographique est demandé en cas de grossesse d'évolutivité incertaine, afin de pouvoir affirmer une grossesse arrêtée.
- l'arrêt de la grossesse est confirmé par l'absence de l'apparition d'un embryon en cas de sac gestationnel intra utérine (SGIU) avec vésicule vitelline (vv) mais sans embryon, un contrôle échographique à 11 jours est recommandé.
- si le SGIU sans VV, un contrôle échographique à 14 jours est recommandé : en l'absence d'apparition d'un embryon, l'arrêt de la grossesse peut être confirmé (Preisler et al., 2015).

## IV. Grossesse arrêtée et génétique

Environ 15% des grossesses cliniquement reconnues se terminent par une perte de grossesse, qui est la complication la plus courante, Parmi celles-ci, 50% sont causées par des anomalies chromosomiques telle que l'aneuploïdie.

De nombreux facteurs génétiques entraînent une perte de grossesse et plusieurs études ont cherché à identifier les gènes potentiellement responsables impliqués dans la survenue de cette pathologie. La connaissance de gènes spécifiques pourrait également être importante pour comprendre les voies biologiques qui peuvent causer une perte de grossesse (Colley et al., 2019). Les complications gestationnelles sont en rapport avec des facteurs de risque thrombophilique maternels qu'ils soient acquis ou héréditaires (Sarig et al., 2009).

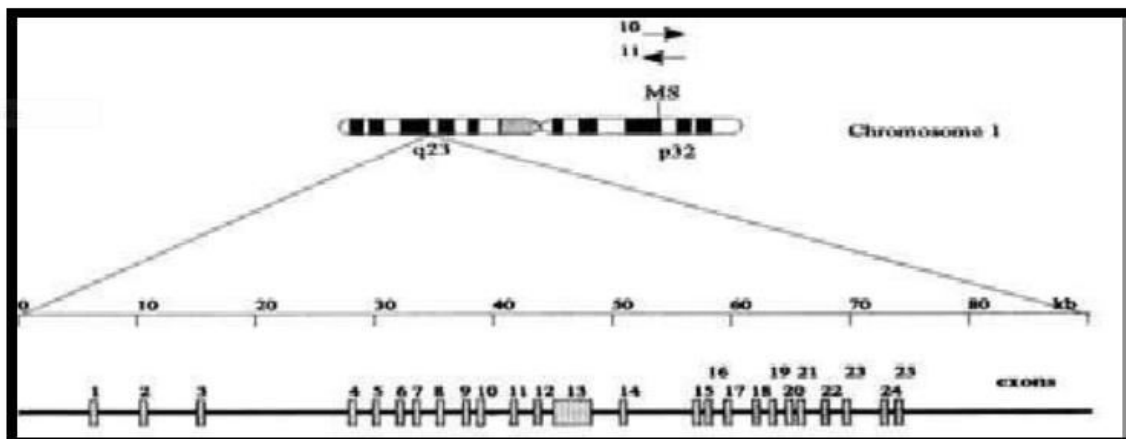
### 1. Gène de la prothrombine (facteur II)

La prothrombine est une sérine protéase impliquée dans la coagulation. Elle est transformée en thrombine par la prothrombinase. La thrombine transforme le fibrinogène en fibrine. La concentration de prothrombine avec l'antithrombine est l'un des deux déterminants majeurs de la génération de thrombine (Butenas et al., 2002).

Le gène du facteur II est situé sur le chromosome 11 (11p11-q12). Il comprend 21 kilo base (KB) et organisé en 14 exons chevauchés par 12 introns. Des études ont montré l'implication de la mutation FIIG20210A dans les événements obstétricaux, les fausses couches à répétition du 1<sup>er</sup> et du 2<sup>ème</sup> trimestre (Pihusch et al., 2001) ou bien encore des fausses couches tardives (Gris et al., 1999 ; Martinelli et al., 2000). Cette mutation est caractérisée par une transition **G>A** dans la région 3' non traduite du gène (FIIG20210A) qui est décrite en 1996 par Poort et al. (1996) . La substitution d'une guanine par une adénine lui confère une activité supérieure avec une meilleure reconnaissance du site de clivage, et une accumulation supérieure d'ARNm mature dans le cytoplasme, aboutissant à une augmentation de la synthèse protéique, ce qui explique le risque plus élevé de thrombose liée à cette mutation.

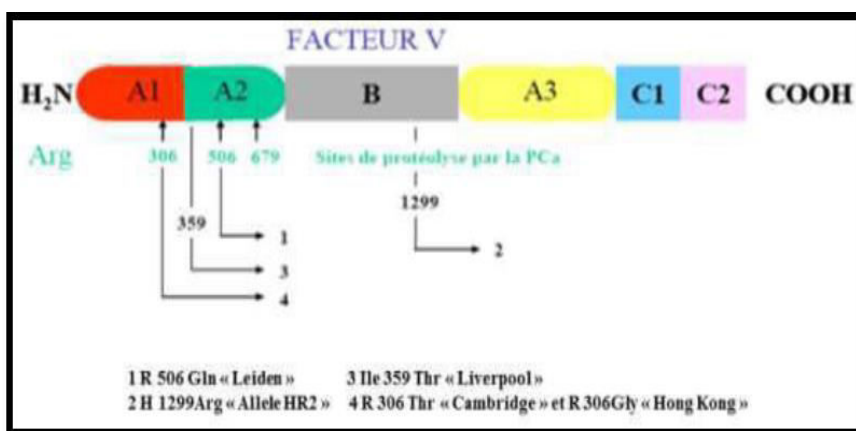
### 2. Gène du facteur V Leiden (FVL) ou mutation G1691A

Le gène du facteur V est situé sur le bras long du chromosome 1 (Eva et al., 2002 ; Stefano et al., 2004) en 1q23 et s'étend sur 80 kb avec 25 exons et 24 introns (Figure 5) (Jadli et al., 2015). Il est physiologiquement inactivé par la Protéine C qui le coupe en 3 sites précis : Arg 306, Arg 506, Arg 679 mais une inactivation complète se fait en 306 (Ferhane, 2016).



**Figure 5 :** Représentation schématique du gène de facteur V (Patrushev et al., 1998)

Une mutation hétérozygote ponctuelle de type substitution **G>A** (faux-sens) est située dans l'exon 10 du gène codant le Facteur V (Rey et al., 2003). Cette mutation entraîne une hypercoagulabilité par le changement de codon sauvage CGA en CAA et au niveau protéique, l'arginine est remplacée par une glutamine.



**Figure 6 :** Mutations du facteur V associées à une diminution de la réponse plasmatique à la PCa (Moussalem et al., 2001).

### 3. Gène du PAI1

L'inhibiteur de l'activateur du plasminogène 1 aussi appelé PAI 1 pour plasminogen activator inhibitor-1 est le principal inhibiteur du tPA (Tissue plasminogen activator) et de l'urokinase (uPA), les activateurs du plasminogène et par conséquent la fibrinolyse (Sawdcy et al., 1991).

Ce gène est localisé sur le chromosome 7 humain (7q21.3-q22). Il s'étend sur environ 12,2 kb, contient 9 exons et 8 introns (Klinger et al., 1987). Il spécifie deux transcriptions distinctes d'une longueur d'environ 2,3 et 3,2 kb qui sont colinéaires à partir de leurs extrémités 5' (se différenciant uniquement par la longueur de leurs régions non traduites en 3') et semblent être formées par polyadénylation alternative (Folio et al., 1989).

Il existe un polymorphisme connu sous le nom de 4G/5G dans la région promotrice du gène du PAI1 (Dawson et al., 1991), qui correspond à l'insertion (5G) ou à la délétion (4G) d'une guanine en position 675 du promoteur (Rerolle et al., 2001). L'allèle 5G est légèrement moins transcrit que la 4G. Ce polymorphisme semble être impliqué dans la survenue des FCS. Le génotype 4G/4G du PAI-1 est associé à un taux plasmatique élevé de PAI-1 responsable d'un nombre accru de thromboses au cours de la coagulation intra vasculaire et d'une hypofibrinolyse ce qui explique des arrêts de grossesse qui surviennent à tous les stades de la grossesse) (Hoekstra et al., 2003).

#### **4. Gène de l'annexine V (haplotype M2)**

L'annexine V (AV) est une protéine ubiquitaire de 35-36 Kilo Dalton (KDa), qui a une grande affinité pour les phospholipides anioniques. Largement exprimée au niveau du placenta et qui est en grande quantité à la surface des trophoblastes en contact avec le sang maternel (Ulander et al., 2007). Elle a des propriétés anticoagulantes en raison de sa capacité à déplacer les facteurs de coagulation des surfaces phospholipidiques, et de sa capacité à diminuer l'expression du facteur tissulaire à la surface des trophoblastes. Elle assure donc un rôle anti thrombotique protecteur à la surface des ST placentaires (Rand, 2000).

Une combinaison de polymorphismes dans le promoteur du gène de l'annexine 5 situé sur le chromosome 4q27 appelé haplotype M2 responsable d'une diminution de l'expression de cette protéine à la surface des trophoblastes en présence d'antiphospholipides à un taux de 37 à 42 % de la normale, et associé à un risque accru de FCS (Bogdanova et al., 2007; Ulander et al., 2007 ; Christiansen et al., 2008 ; Tüttelmann et al., 2013).

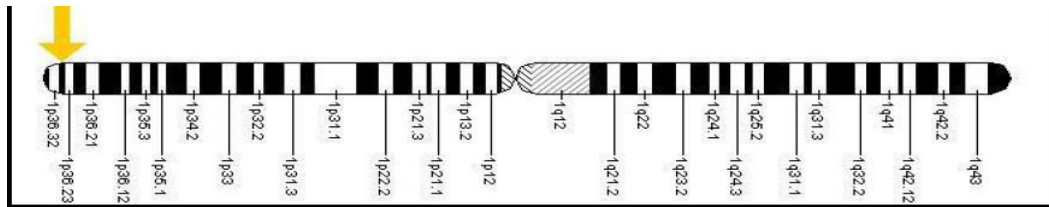
#### **5. Gène MTHFR**

La Méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR) est une importante enzyme régulatrice du métabolisme des folates (dérivés de l'acide folique/vitamine B9 qui jouent un rôle dans les régulations épigénétiques de l'expression des gènes). Il s'agit d'un donneur du radical méthyle dans la réaction de la reméthylation de l'homocystéine en méthionine (Berrut



et al., 2003). Elle possède un dimère de 150 kDa comprenant deux isoformes de tailles variables : 77 kDa et 70 kDa (Frosst et al., 1995).

Le gène *MTHFR* humain est localisé à la position 1p36.3 (Figure 7). Il comprend 11 exons et s'étend sur une longueur de 2,2 Kb (102 à 432 Pb) (Goyette et al., 1994 ; Ueland et al., 2005).



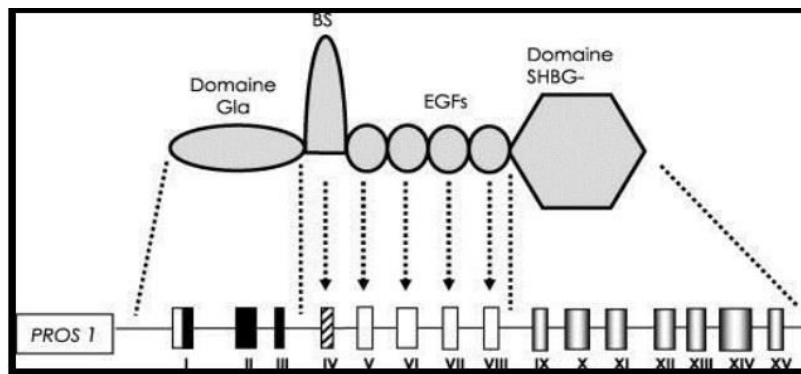
**Figure 7:** Localisation du gène *MTHFR* sur le chromosome 1q36.3 (Saffroy et al., 2005).

Le polymorphisme le plus courant est la substitution 677 CT, qui correspond au remplacement d'une alanine par une valine dans la séquence protéique. Ce polymorphisme conduit à une réduction de l'activité enzymatique de 30% chez les hétérozygotes (CT) et de 80% chez les homozygotes (TT) (Goyette et al., 1998 ; Chehadeh et al., 2016). C'est pourquoi le génotype mutant homozygote (677TT) est associé à une légère hyperhomocystéinémie (Frosst et al., 1995). Cette association est encore plus évidente lorsque l'on considère des individus dont le sang présente un taux de folates réduit (Jacques et al., 1996). Le génotype 677TT augmente le taux de FCS au début de la grossesse de 30-40%, de 40% le risque de problèmes vasculaires placentaires et de 20% la probabilité de pré-éclampsie (Ueland et al., 2005).

## 6. Gène de la protéine S (PS)

La PS est une glycoprotéine plasmatique, de poids moléculaire de 70kDa. Elle comporte 635 acides aminés (Figure 8). Elle synthétisée principalement par le foie en présence de la vitamine K, également dans les cellules endothéliales, les mégacaryocytes et les cellules de Leiding du testicule et joue un rôle dans la coagulation, l'apoptose, l'athérosclérose, l'angiogenèse, la vascularisation et la progression du cancer. C'est un cofacteur peu puissant de la PCa (Suleiman et al., 2013).

Le gène de la PS (*PROS1*) est localisé sur le chromosome 3 en position 3p11.2, il est de 80 Kb et se compose de 15 exons et 14 introns. La mutation PS Lys196-to-Glu (K196E) est un facteur de risque génétique de thromboembolie veineuse chez les Japonais (Suleiman et al., 2013 ; Wypasek et al., 2013; Maruyama et al., 2015).

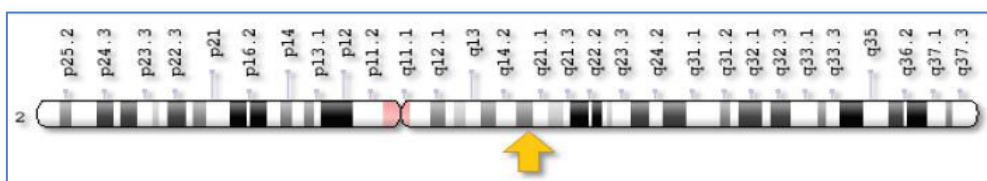


**Figure 8:** Structure de la PS et de son gène *PROS1* (Borgel et al., 2007).

## 7. Gène de la protéine C (PC)

Le gène *PROC* est situé sur le chromosome 2 dans la région q13-14. Il est d'environ 11Kb, et composé de 9 exons et 8 introns (Figure 9) (Griffin et al., 2007). Ce gène code pour une glycoprotéine de synthèse hépatique, vitamine K dépendante et zymogène d'une sérine protéase, de 62 KDa.

La PC est activé par la thrombine fixée par la thrombomoduline, une protéine exprimée à la membrane des cellules endothéliales. L'activation de la PC est favorisée par sa fixation à l'EPCR (endothelial cell protein C receptor). Cette forme active contient un domaine sérine protéase et fonctionne dans la dégradation des formes activées des facteurs de coagulation V et VIII (Griffin et al., 2007).



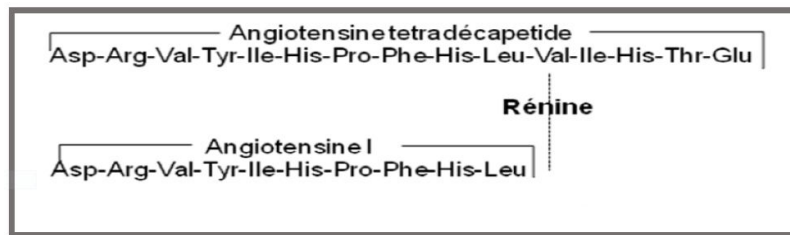
**Figure 9 :** Localisation du gène *PROC* sur le chromosome 2 (Griffin et al., 2007).

La plupart des mutations sont ponctuelles (faux-sens), et n'annulant pas totalement l'expression du gène et leur caractère délétère est difficile à prouver compte tenu de la pénétrance faible (Reitsma et al., 1995).

## 8. Gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA)

### 8.1 L'Angiotensine I

L'Ang I est le produit de la réaction de la rénine sur son substrat l'angiotensinogène. Elle clive son substrat entre l'acide aminé en position 10 (leucine) et celui en position 11 (leucine ou valine chez l'homme) pour libérer l'angiotensine. Ce peptide, dont la séquence correspond aux 10 acides aminés NH<sub>2</sub> terminaux de l'angiotensinogène est une molécule inactive, qui peut être clivée par différentes enzymes pour produire des peptides biologiquement actifs, dont l'Ang II, considérée comme l'effecteur majeur de SRA (Gardier, 2004).

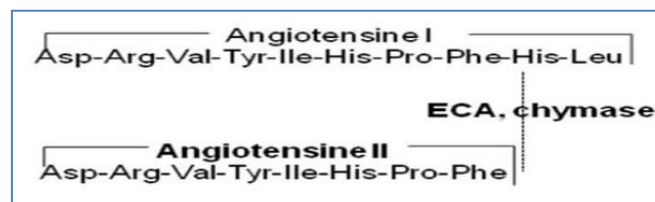


**Figure 10 :** Synthèse de l'Angiotensine I par la rénine (Wright et al., 2008).

### 8.2 L'Angiotensine II

Est produite dans la circulation (endocrine), mais aussi localement (paracrine), notamment à la surface des cellules endothéliales.

L'ECA transforme l'Ang I en Ang II qui est un octapeptide (8 acides aminées) physiologiquement actif caractérisé par son vasoactivité, en brisant le lien peptidique phénylalanine en position 8, libérant les 2 acides aminés carboxy-terminaux (histidine et leucine) de l'Ang I (Ihara et al., 1999) (Figure 10). Elle a de nombreuses fonctions telles que la régulation de la pression artérielle (PA), le tonus vasculaire et le contrôle de la rétention d'eau (Kim et al., 1995). Elle influence aussi les fonctions endothéliales et stimule l'inflammation, la prolifération et le processus de thrombose (Schrader et al., 2007).



**Figure 11:** Synthèse de l'angiotensine II par l'ECA (Wright et al., 2008).

### 8.3 Enzyme ECA

L'ECA est une enzyme ubiquitaire, métallo-peptidase à zinc ancré sur la face externe de la membrane plasmique, largement distribuée sur la surface des cellules endothéliales et épithéliales. Elle est connue sous différentes dénominations, comme la dipeptide carboxypeptidase ou la peptidylpeptide hydrolase ou Kininase II (EC 3.4.15.1) (Laraqui, 2006 ; Lefebvre, 2008). Elle possède plusieurs substrats: angiotensine I, bradykinine, enképhaline.

La séquence complète en acides aminés de l'ECA a été déterminée. Elle existe sous trois formes:

- une forme membranaire, pourvue de peptide d'ancrage, de poids moléculaire (PM) 160 kDa.
- une forme circulante soluble légèrement plus petite, qui résulte d'un clivage protéolytique au niveau de la partie ancrée à la membrane cellulaire, de PM 140 kDa,
- une forme testiculaire de PM 90 kDa.

L'ECA est une protéine hautement glycosylée (les sucres représentent selon les formes 20 à 30% du poids moléculaire de l'enzyme). Elle est synthétisée sous forme d'un précurseur avec un peptide signal qui est clivé pour donner la molécule mature (Laraqui, 2006; Dially, 2011).

#### 8.3.1 Structure de l'ECA

L'étude de la séquence de l'ECA membranaire met en évidence une structure protéique comportant 3 domaines distincts:

- un court domaine intracellulaire carboxy-terminal de 24 acides aminés, un domaine transmembranaire hydrophobe de 20 acides aminés servant d'ancrage de la protéine dans la membrane cellulaire;
- un domaine extracellulaire est composé de deux sites homologue (le domaine N et le domaine C) qui constituent les sites catalytiques de l'enzyme, qui possèdent des activités dipetidyl carboxypeptidase et endoprotéolytique pourraient ainsi expliquer la multitude de substrats potentiels de l'ECA, ces sites ayant entre eux une forte homologie (60%), possédant chacun un site actif pouvant lier le zinc (Dially, 2011).

#### 8.3.2 Fonction et rôle de l'ECA

L'ECA est un composant important du SRA, impliqué dans le maintien de la pression artérielle et l'équilibre hydrominéral par différents mécanismes tels que la vasoconstriction, la libération de l'aldostérone suite à une rétention du sodium et de l'eau, la régulation de

l'équilibre sanguin intra-rénal, la stimulation de la soif et la libération de la vasopressine et des catécholamines. La fonction majeure de l'ECA est d'hydrolyser les deux derniers acides aminés de l'extrémité carboxy-terminale des peptides. L'activité de cette métallo-enzyme à zinc nécessite la présence d'anions en particulier l'atome de zinc et du chlore, qui modifiant la conformation allostérique du site actif, en lui donnant une spécificité pour les substrats di-peptidiques (Laraqui, 2006).

L'ECA joue un double rôle : elle transforme l'Ang I en Ang II, par ailleurs elle dégrade la bradykinine en kinines inactives et les peptides neuronaux : substance P, enképhalines, la Luteinizing Hormone-Releasing Hormone (LH-RH) (Leclerc et al., 2013).

Un taux élevé d'ECA dans le plasma ainsi que dans les parois des vaisseaux favoriserait la formation d'Ang II et la dégradation de la bradykinine (Baudin, 2005).

### 8.3.3 Gène de l'ECA humain

Le gène de l'ECA est localisé sur le bras long du chromosome 17 en position 17q23. Composé de 21 kb et comprend 26 exons et 25 introns (Cambien et al., 1995) (Figure 10).

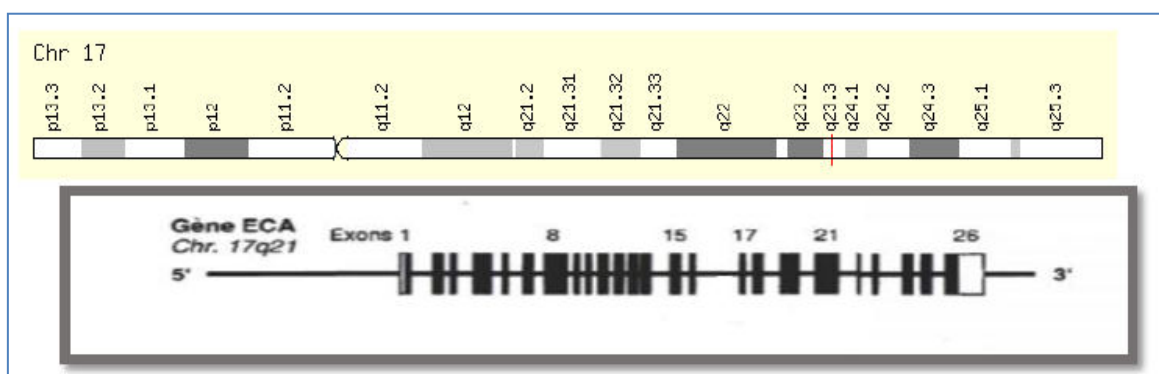


Figure 12 : Locus du gène de l'ECA (Lefebvre, 2008).

Deux promoteurs donnent lieu à :

- une **ECA somatique** largement distribuée dans l'organisme, en utilisant les exons 1 à 26 sauf l'exon 13,
- et par épissage alternatif à une **ECA testiculaire**, utilisant les exons 13 à 26, qui est requise pour la fertilité masculine (Sayed-Tabatabaei et al., 2006).

La longueur des exons varie de 88 paires de base (pb) (exon 16) à 481 pb (exon 26). La taille des introns varie de 150 pb (introns 17 et 25) à 2000 pb (intron 20). Son transcrite mature, ayant une taille de 4,3 Kb, est traduit en un peptide de 1340 acides aminés (Laraqui, 2006).

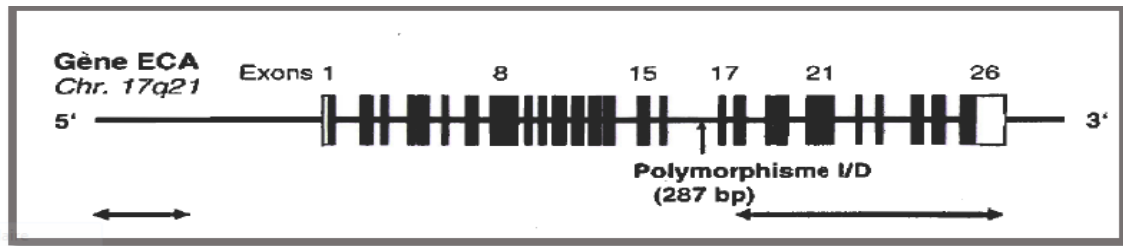
La variabilité de l'expression de ce gène a été proposée comme le facteur majeur déterminant le niveau de capacité aérobie (Montgomery et al., 1998). Il est exprimé dans plusieurs tissus, incluant le muscle squelettique, et en raison de son rôle de facteur de croissance tissulaire, il peut être considéré comme un gène candidat de la performance (Gayagay et al., 1998).

### 8.3.4 Polymorphisme génétique de l'ECA

Selon le National Center for Biotechnology Information (NCBI), il a été répertorié plus de 160 polymorphismes génétiques de ce gène, dont la plupart sont des SNPs. Seulement 34 de ces polymorphismes sont situés dans les régions codantes; 18 d'entre eux sont des mutations faux-sens (Sayed-Tabatabaei et al., 2006).

Le polymorphisme du gène *ECA* a d'abord été rapporté par Rigat et ses collaborateurs en 1990 par analyse du polymorphisme de longueur de fragment de restriction (RFLP) dans une étude qui a abordé le rôle du gène *ECA* dans le contrôle génétique des niveaux plasmatiques d'ECA (Rigat et al., 1990).

Le clonage d'ADN complémentaire (ADNc) de l'ECA a permis d'identifier un polymorphisme d'Insertion / Délétion (I / D) d'un fragment intronique de 287 pb, riche en séquence *Alu*, au sein de l'intron 16 (Soubrier et al., 1988; Rigat et al., 1992). La séquence *Alu* appartient à une famille d'ADN modérément répétitive possédant en général un site de restriction pour l'enzyme *AluI*. Elle comporte 300 000 copies de 300 pb, retrouvées tout au long du génome, même dans les introns des gènes comme pour l'ECA. La fonction de ces séquences *Alu* est actuellement inconnue et un rôle éventuel dans la réplication n'est pas encore prouvé. La présence singulière de formes délétées ou insérées pour une séquence de 190 pb reflète l'existence de deux allèles: I de 490 pb et D de 190pb et définit le polymorphisme du gène ECA I/D. Trois génotypes sont possibles, deux homozygotes (II et DD) et un hétérozygote (ID). Ce polymorphisme I/D affecte fortement le taux plasmatique de l'ECA, mais son mécanisme d'action est probablement lié à un déséquilibre de liaison avec un autre polymorphisme plutôt qu'à un effet direct puisque le polymorphisme I/D est localisé dans un intron (Rigat et al., 1990). Cependant, d'autres polymorphismes ont été mis en évidence sur le gène de l'ECA situé sur des régions variables de ce dernier: (T-5491C, T-93C, a-240T, T237C, 4656CT2/3). Ces polymorphismes ne sont pas encore identifiés comme fonctionnels et leur relation à une éventuelle pathologie est en cours d'étude (Laraqui, 2006).



**Figure 13** : Polymorphisme génétique de l'*ECA* (Lefebvre, 2008).

### 8.3.5 Gène *ECA* et grossesse arrêtée

L'*ECA* joue un rôle important dans la modulation de l'homéostasie vasculaire, de l'inflammation et de l'angiogenèse, ainsi un impact sur la structure vasculaire et la fonction de placenta. Sur la base de ses fonctions biologiques, le polymorphisme d'insertion/délétion (I / D) du gène *ECA*. Semblent être un locus candidat pour la fibrinolyse qui pourrait favoriser le développement d'avortement spontané récurrent (ASR) (Glueck et al., 2004; Guimarães et al., 2011).

La fréquence des allèles varie considérablement entre les populations. La corrélation entre génotype et le niveau d'*ECA* plasmatique a montré une relation significative entre la dose d'allèle D et la concentration d'*ECA*. Normalement, les niveaux d'*ECA* plasmatique présentent une variation interindividuelle marquée mais semblent remarquablement stables lorsqu'ils sont mesurés à plusieurs reprises pour le même sujet. Ce polymorphisme justifierait 30 à 40% de la variabilité de la concentration plasmique de l'*ECA* (Rigat et al., 1990; Tired et al., 1992).

Le polymorphisme I/D est associé à un changement de l'activité de l'*ECA* et à ses niveaux dans le plasma et les tissus (Yang et al., 2012 ; Merlo et al., 2016). Il a été démontré que les individus porteurs de l'allèle D présentaient une activité sérique de l'*ECA* supérieure à celle de l'allèle I, par conséquent, l'activité de l'enzyme *ECA* augmente chez les homozygotes du génotype DD, intermédiaire chez les hétérozygotes (ID) et diminue chez les homozygotes (II) (Rigat et al., 1990). De nouvelles preuves ont montré que l'allèle D entraînait une augmentation de l'expression de PAI-1, et par conséquent accroît le risque d'événements thrombotiques et améliore la production d'angiotensine II à partir d'angiotensine I (Yang et al., 2012 ; Sum et al., 2013). Il a été suggéré que l'allèle D du polymorphisme I / D conduisait à une expression plus élevée de l'ARN messager (ARNm) de l'*ECA* et pouvait affecter le système rénine- angiotensine dans des régions locales dans une étude antérieure (Suehiro et al., 2004).

## 1. Type d'étude

Notre étude est transversale de type cas-témoins. Elle s'est étendue du mois de Mars au mois de Mai 2019. Elle a été réalisée au niveau du service de gynécologie du centre hospitalo-universitaire Ibn Badis Constantine (CHUC), au niveau du laboratoire de biologie et génétique moléculaire de l'université Salah Bounider Constantine 3 et au niveau du laboratoire de biologie moléculaire de l'université des frères Mentouri, Constantine 1.

### 1.1. Recrutement des patientes

89 patientes ont été incluses dans l'étude statistique et nous avons pu prélever pour l'étude moléculaire 14 patientes. La sélection de ces patientes a été faite en respectant des critères bien définis.

#### 1.1.1. Critère d'inclusion

Les patientes incluses dans notre étude sont :

- des femmes déclarées par les gynécologues avec une grossesse arrêtée ou une fausse couche spontanée.
- des femmes dont l'âge gestationnel étant inférieur à 28 semaines et ou d'un poids foetal inférieur à 500 grammes.

#### 1.1.2. Critère d'exclusion

Sont exclues de notre étude :

- les femmes enceintes qui ont une fausse couche non spontanée .
- les femmes refusant de faire le prélèvement.

### 1.2. Recrutement des témoins

Les femmes témoins incluses dans cette étude ont été prises à partir de la banque d'ADN du laboratoire de biologie et génétique moléculaire du CHUC. Ces femmes témoins ont été sélectionnées sur la base de leur fertilité prouvée avec un enfant déjà né.

## 2. Recueil des données

Les données nécessaires pour notre enquête, sont recueillies à partir d'un interrogatoire (fiche de renseignement) avec les malades (Annexe 1) accompagné d'un consentement éclairé pour chaque patiente. Afin d'enregistrer toutes les informations nécessaires à notre étude, la consultation des dossiers médicaux du chaque malade a été également réalisée (étude statistique rétrospective).



### 3. Méthodes utilisées

#### 3.1 Prélèvement sanguin

Le prélèvement sanguin a été réalisé pour chaque patiente au niveau de la veine du pli du coude, sous des conditions stériles. Le sang a été collecté dans des tubes EDTA (Éthylène Diamine Tétra-acetic Acid) vacutainer, portant des étiquettes avec les noms et prénoms ainsi que le numéro du prélèvement.

L'EDTA est un anticoagulant qui inhibe l'action des enzymes DNase ou nucléases, préservant ainsi l'intégrité moléculaire et permettant à l'ADN de rester intact pour permettre par la suite le génotypage des gènes d'intérêt.

Au total, 5-10 ml ont été prélevés pour chaque femme et le sang est conservé ensuite dans un réfrigérateur pendant 10 jours au maximum.

#### 3.2 Extraction d'ADN génomique (la technique au NaCl)

L'origine de l'information génétique est portée par l'ADN contenue dans les leucocytes (Prélèvement sanguin) ou dans d'autres prélèvements comme les biopsies.

##### 3.2.1 Principe de l'extraction d'ADN

Les leucocytes sont séparés du sang total par lyse hypotonique et traités ensuite par un détergent, Sodium Dodécyle Sulfate (SDS) et une protéinase K. L'ADN nucléaire est libéré dans le milieu et les protéines qui lui sont associées sont digérées et éliminées par précipitation au NaCl. La pelote d'ADN est formée dans le surnageant par précipitation avec l'éthanol (Protocole en Annexe 2).

#### 3.3. Génotypage du polymorphisme Insertion/Délétion de l'ECA

Le polymorphisme étudié du gène de l'ECA correspond à Insertion (I) /Délétion (D) d'un fragment de 287 paires de base dans l'intron 16 du gène. La détermination du génotype a été effectuée par PCR directe suivie d'un contrôle des produits de PCR sur gel d'agarose.

##### 3.3.1. PCR (Polymérase Chaîne Réaction)

La PCR est une technique de biologie moléculaire, mise au point en 1985 par Karry Mullis. Il s'agit d'une technique d'amplification d'ADN *in vitro*. Elle permet d'obtenir un très grand nombre de copies d'une séquence d'ADN choisie.

Chaque cycle de PCR est constitué de trois étapes :

- Une **dénaturation** de l'ADN

- **une hybridation** des amorces aux extrémités de la séquence recherchée.
- **une élongation** grâce à l'action d'une ADN polymérase, *Taq polymérase*.

Ce cycle est répété de 30 à 40 fois pour obtenir une multiplication exponentielle de la séquence d'ADN cible.

### 3.3.1.1. Préparation du milieu réactionnel (mix) de PCR

Pour préparer le milieu réactionnel ou un mix de PCR, il faut multiplier la quantité de chaque réactif par le nombre de tubes voulu (14) + 2 tubes (un pour le témoin négatif et un pour le témoin positif).

Les réactifs utilisés dans la PCR doivent d'abord être dilués (dNTP ; amorces) selon la formule suivante:  $C1 \times V1 = C2 \times V2$

Sachant que :

**C1** : concentration initiale de chaque réactif (mentionnée sur le tube).

**V1** : volume initial nécessaire à la dilution (inconnu).

**C2** : concentration finale (mentionnée dans le protocole utilisé).

**V2** : volume final (selon le nombre de tubes).

Donc :  $V1 = C2 \times V2 / C1$

Une fois le volume initial (V1) est connu, le volume de l'eau distillée nécessaire pour la dilution de chaque réactif est calculé comme suit :  $V2 - V1 = \text{Veau distillée}$

Un milieu réactionnel de PCR pour chaque échantillon d'un volume final de 10µl a été préparé.

Les composants du milieu réactionnel sont mentionnés dans le tableau ci-dessous

**Tableau 1 : Les quantités de chaque constituant du milieu réactionnel de la PCR.**

Réactifs	Quantité µl
dNTP	1,6
MgCl2	0,3
Amorce sens	1
Amorce antisens	1
Tampon	1
Taq polymérase	0,08
Eau distillée stérile	4,02
ADN	1
	10

La séquence des amorces utilisées pour l'amplification du polymorphisme de l'*ECA* est mentionnée ci après :

**ECA F (sens) :** 5' CTG GAG ACC ACT CCC ATC CTT TCT 3'

**ECA R (anti-sens):** 5' GAT GTG GCC ATC ACA TTC GTC AGAT 3'

Après avoir préparé le mix de la PCR selon le nombre d'échantillon, nous avons pris 9 µl de ce mélange avec 1 µl d'ADN dans chaque tube de PCR pour chaque sujet génotypé.

### 3.3.1.2. Déroulement des cycles de la PCR

Le déroulement des cycles de la PCR a été assuré par un thermocycleur et les conditions d'amplification étaient comme suit :

- Une dénaturation initiale à 95°C pendant 5 minutes, suivies de 32 cycles de PCR, comprenant chacun :
- une dénaturation à 95°C pendant 30 secondes,
- une hybridation à 65°C, 30 secondes
- une élongation à 72°C pendant 30 secondes
- et enfin une élongation finale à 72°C pendant 2 minutes.

### 3.3.2. Préparation du gel d'agarose à 2%

Le gel est préparé en mélangeant 2g d'agarose avec 100 ml du TBE 1X (Annexe 3) additionné de 10µl du bromure d'éthidium (BET) qui est un agent intercalant servant à permettre une fluorescence sous UV. Le gel est déposé sur une plaque d'une cuve horizontale comprenant un peigne. Le gel est laissé pour se polymériser à l'air libre.

### 3.3.3. Contrôle des produits de la PCR

L'identification des génotypes II, ID, DD du gène *ECA* a été faite par migration électrophorétique des produits de PCR sur gel d'agarose à 2%. Dans chaque puits du gel 10µl du produit amplifié mélangé avec 2 µl du tampon de charge (DNA Loading Buffer) sont déposés.

Un échantillon sans ADN (blanc : témoin négatif), est inclus dans la série à amplifier et sert de control négatif. La migration se fait en parallèle avec un marqueur de taille (100 pb). Le système d'électrophorèse est soumis à un courant de 100 volts pendant 30 à 45 minutes.

Après la migration, le gel est visualisé sous UV dans un trans-illuminateur. Les molécules de BET fixées à l'ADN émettent une lumière visible (fluorescence) et photographiable et

permettent de visualiser les fragments amplifiés sous forme de bandes fluorescentes. Ce contrôle permet aussi de confirmer l'amplification de notre ADN et d'exclure toute contamination d'ADN survenue au cours de la PCR grâce au puits contenant le témoin négatif.

#### 4. Etude statistique

Notre enquête de type cas-témoins consiste à comparer la fréquence d'exposition antérieure à un (ou plusieurs) facteurs(s) de risque dans un groupe de « cas » de femmes avec une grossesse arrêtée, et dans un groupe de « témoins » supposées en bonne santé. Toutes les données de notre étude ont été traitées à l'aide de logiciel Microsoft Office Excel 2007.

Le logiciel Epi info version 6.0 a été utilisé pour déterminer s'il existe une corrélation entre le polymorphisme Insertion/délétion de l'*ACE* et la grossesse arrêtée. Un tableau de contingence a été établi pour le calcul de l'odds ratio. Le caractère malade/non malade est présenté en colonne et le statu exposé/non exposé en ligne (Tableau 2).

**Tableau 2:** Tableau de contingence

	<b>Patients</b>	<b>Témoins</b>	<b>Total</b>
<b>Exposé</b>	a	b	a+b
<b>Non exposé</b>	c	d	c+d
	a + c	b+d	a+b+c+d

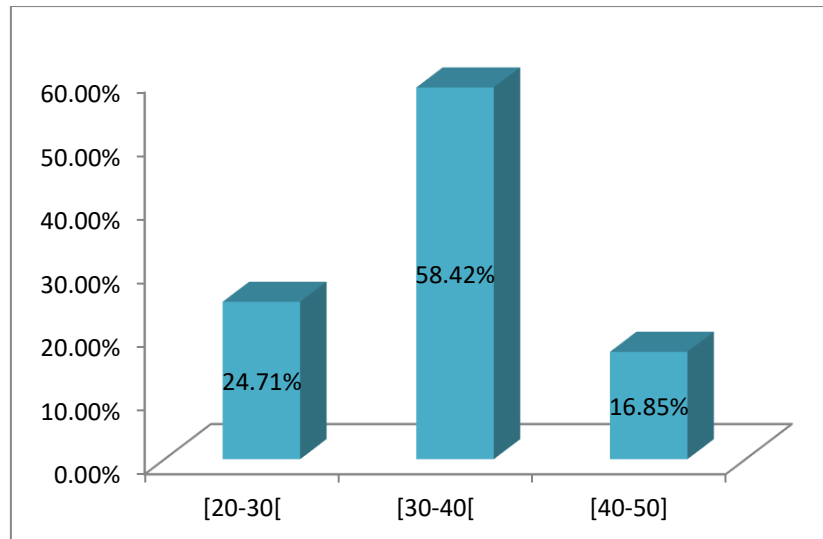
L'odds ratio est calculé par la formule suivante : **OR = a/b / c/d**

Pour une valeur P inférieure à 0,05, l'association est déclarée statistiquement significative.

## 1. Résultats des paramètres cliniques et sociodémographiques

### 1.1 Répartition des patientes selon l'âge

Nous avons répartie l'ensemble de notre population d'étude selon l'âge. La moyenne d'âge est de 32 ans, avec des extrêmes allant de 22 à 42 ans.



**Figure 14** : Répartition des patientes selon les tranches d'âge.

La figure ci-dessus représente la répartition des patientes selon les différentes tranches d'âge. Nous avons observé que les femmes les plus touchées sont celles situées dans la tranche d'âge de [30-40[, ce qui représente une fréquence de 58,42%. Suivie par une fréquence de 24,71% pour la tranche d'âge [20-30[, puis les patientes de la troisième tranche [40-50] ne représentent que la fréquence de 16,85%.

Nos résultats sont en accord avec l'étude de Clifford et al, (1994) qui a montré que le taux de FCS est de 25% pour les patientes de moins de 30 ans, et que ce taux augmente progressivement vers 52% pour les femmes de plus de 40 ans. De même, les résultats obtenus par Andersen et al, (2000) ont montré que le taux de FCS augmente avec l'âge féminin avec un minimum inférieur à 10% de FC chez les femmes de 22 ans et augmente à plus de 50% chez celles de 42 ans, avec une accentuation de ce risque à partir de 35 ans : l'âge féminin  $\geq$  à 36 ans est associé à une prévalence accrue de FCS. Selon d'autres études, le taux de FCS précoces varie avec l'âge maternel, il est stable entre 20 et 40 ans (Blohm et al., 2008). Il atteint 20 % pour un âge maternel de 35 ans, 40 % à 40 ans. Cette augmentation du risque de FC précoces (avant 13 SA) avec l'âge maternel a été pareillement notée dans l'étude cas-témoins avec analyse multivariée de Maconochie et al., 2007. Delabaere et al, (2014) a

également observé que l'âge maternel est associé à une prévalence accrue de FCS, notamment après 35 ans.

### 1.2 Répartition des patientes selon l'origine géographique

Les patientes qui ont été incluses dans cette étude proviennent de sept villes de l'Est algérien.

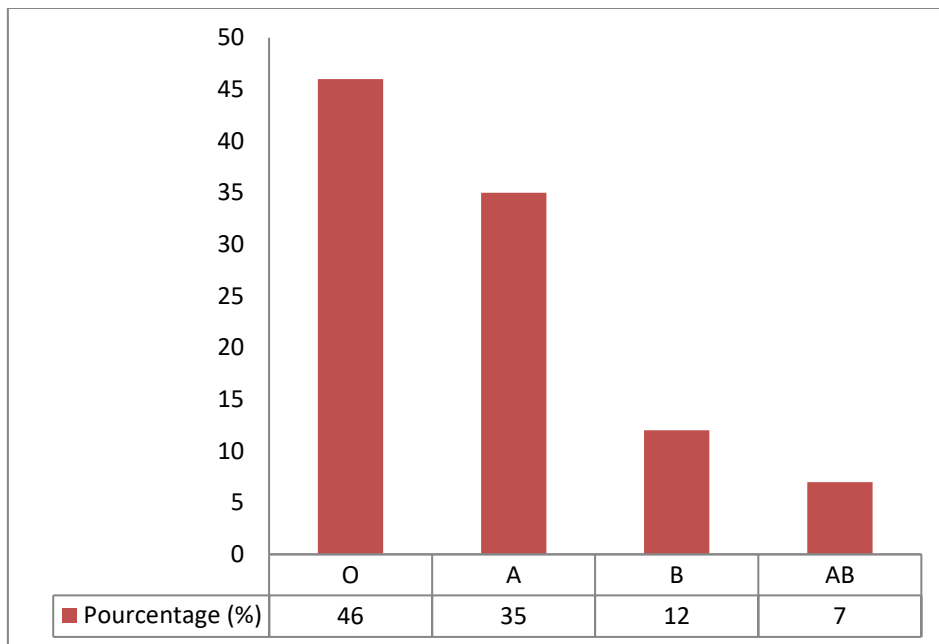
**Tableau 3** : Répartition des patientes selon l'origine géographique.

Ville	Effectifs (n)
Constantine	64
Mila	19
Skikda	2
Tébessa	1
Annaba	1
Oum-El Bouaghi	1
Jijel	1

Selon cette répartition, nous avons observé que la majorité des patientes résident à Constantine (Tableau 3). Cela est due au fait que le recrutement des patients a été uniquement réalisé au niveau du CHUC.

### 1.3 Répartition des patientes selon le groupe sanguin ABO

Nous avons réparti les patientes en quatre groupes selon leur système sanguin ABO (Figure 15).



**Figure 15** : Répartition des patientes selon les phénotypes sanguins.

La majorité de nos patientes étaient de groupe sanguin « O », suivi du groupe sanguin « A », et du groupe sanguin « B », alors que le pourcentage du groupe sanguin « AB » est le plus faible dans notre échantillon (Figure 15).

Ces résultats ne peuvent être interprétés et discutés. Pour pouvoir discuter d'éventuelle incompatibilité du système ABO, nous devons disposer du système ABO fœtal. La plupart des études qui ont été réalisées précédemment ont comparé les résultats de ce système tissulaire entre un groupe de femmes qui ont avorté ainsi que le système ABO de leurs fœtus avec les résultats des femmes qui ont donné naissance à des nouveau-nés (Takano and Miller, 1972 ; Lauritsen et al., 1975 ; Furfaro and Maragliano, 1977 ; Bandyopadhyay, 2011).

Selon ces études, l'incompatibilité ABO entre les couples est probablement un facteur de risque pour les avortements spontanés précoces (Bandyopadhyay et al., 2011).

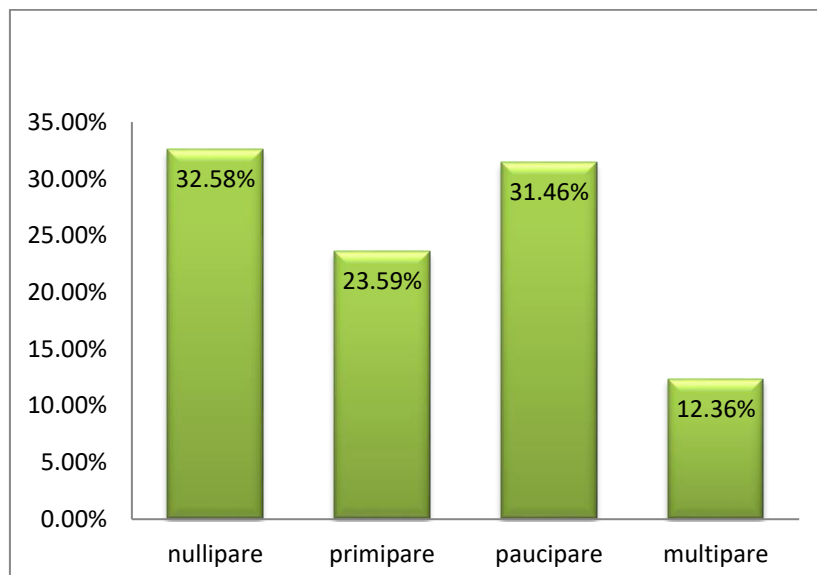
## 1.4 Répartition des patientes selon les obstétricaux

### 1.4.1 Parité

Nous avons classé nos patientes selon la parité en quatre groupes :

- nullipares : 0 accouchement
- primipares : 1 accouchement
- paucipares : 2 ou 3 accouchements
- multipares : 3 accouchements ou plus.

L'étude de ce paramètre nous a permis de relever les données suivantes (Figure 16) :



**Figure 16:** Répartition des patientes selon la parité.

Selon la figure 16, la parité chez les patientes ayant une grossesse arrêtée révèle que la majorité de nos patientes étaient des nullipares et des paucipares avec une fréquence de 32,58; 31,46%, respectivement. 23,59% étaient des primipares alors que les femmes multipares ont un pourcentage plus bas de 12,36%.

Nos résultats sont similaires à ceux publiés par Mokoko et al, (1985) qui avait constaté que la FCS était plus fréquente chez les nullipares avec un pourcentage de 83,9%. Cependant, selon l'étude de Coulibaly, (2008) qui a été réalisée sur 210 cas d'avortement spontané, une fréquence de 50% a été observée chez les paucipares. En revanche, Camara, (2006) a évoqué une fréquence élevée des FCS chez les multipares avec une fréquence de 57,89%.

#### 1.4.2 Age gestationnel

Nous avons répartis les patientes en quatre groupes selon l'âge gestationnel (Figure 17).

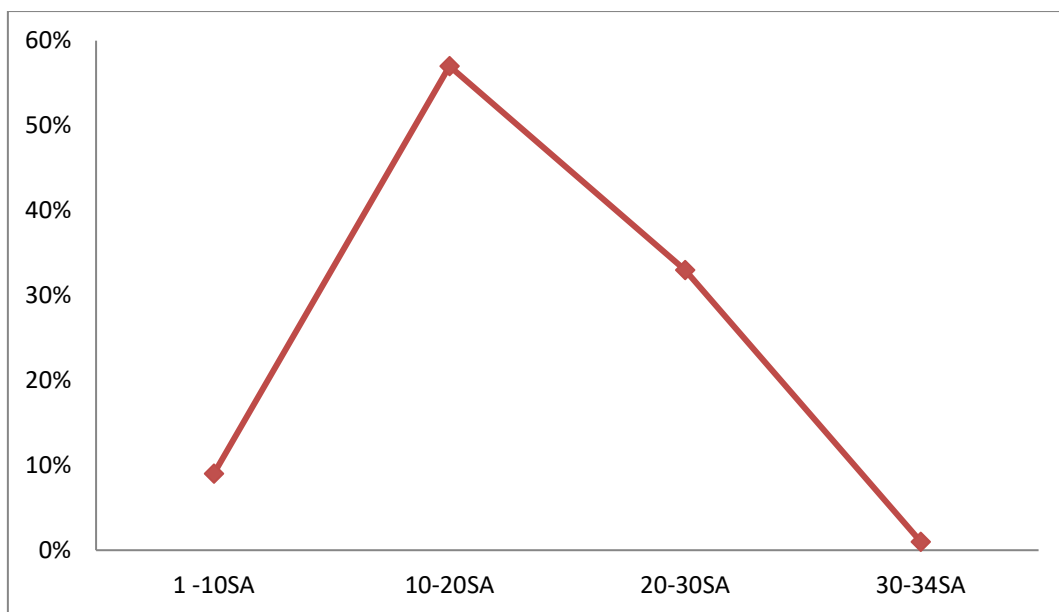


Figure 17 : Répartition des patientes selon l'âge gestationnel.

Le taux le plus élevé a été observé entre 10-20 SA avec un effectif de 51 cas sur 89, soit 57% (Figure 17).

Les résultats obtenus concordent avec ceux de l'étude de Brigham et al. (1999) qui ont démontré que le risque de FC diminue avec le terme de la grossesse : 2% de risque de FC après 8 SA et 0,6 % après 10 SA.

Les pertes fœtales sont enregistrées à partir de 16 SA en Norvège, 20 SA aux États-Unis ou 26 SA en Italie et en Espagne (Mohangoo et al., 2013).

#### 1.4.3 Motif d'hospitalisation



Nous avons effectué une répartition des patientes en fonction du motif d'hospitalisation. Les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau ci après.

**Tableau 4 :** Répartition des patientes selon le motif d'hospitalisation.

Motifs d'hospitalisation	Effectifs	(%)
Utérus cicatriciel	38	42,69%
Grossesse arrêtée seule	32	35,95%
Avortement (ABRT)	7	7,86%
Œuf clair	4	4,49%
métrorragie	4	4,49%
Anti D	4	4,49%

Dans notre série, nous avons noté une nette prédominance des femmes qui ont un utérus cicatriciel (42,69%), suivi par le cas d'ABRT (7,86%) tandis que l'œuf clair, la métrorragie et l'anti D se répartissent de façon égale (4,49%). 35,95% des femmes ont été hospitalisées avec le motif grossesse arrêtée seule (Tableau 4). Concernant l'utérus cicatriciel, la cause essentielle est l'antécédent de césarienne. En France, le taux de césarienne était de 20,8% en 2010 contre 15,5% en 1995, parallèlement, la prévalence de l'utérus cicatriciel a augmenté de 8 à 11%. L'utérus cicatriciel constitue dans les pays développés le principal facteur de risque de rupture utérine dont l'incidence globale est estimée entre 0,1 et 0,5% chez les femmes avec antécédent de césarienne (Deneux-Tharaux, 2012).

Nos résultats en ce qui concerne le motif de grossesse arrêtée sont similaires aux résultats obtenus par Boco et al., (1997) au Bénin qui ont évoqué que la grossesse arrêtée était diagnostiquée dans 33%. L'aspect échographique pour ces grossesses arrêtées était celui d'un sac ovulaire intra-utérin contenant un embryon sans activité cardiaque (Levi et al., 1988 ; Jauniaux et al., 2005 ).

Nos données concernant la fréquence de l'ABRT, sont inférieures à celles déclarées par Prata et al. (2011) qui ont retrouvé une fréquence de 82% d'avortement spontané et 18% d'avortement provoqué. En moyenne 8% des grossesses se terminent par un avortement spontané (Philippe, 1974). L'étude de Karambe, (2015) sur l'étiologie probable des avortements spontanés, a montré que dans 57,5% des cas, l'avortement était dû probablement à un œuf clair dans 4,3%, ce qui est similaire à nos résultats.

Une autre étude réalisée par Belley Priso et al. (2010), a révélé que l'œuf clair était retrouvé dans 12,3% (33cas / 268). L'image échographique était celle d'un sac gestationnel intra-utérin non embryonné avec une mauvaise réaction trophoblastique. Nos résultats sont également proches des résultats obtenus par Boco qui a noté que l'œuf clair occupe le 2<sup>e</sup> rang parmi les causes de grossesse non évolutives après la grossesse arrêtée.

La métrorragie est une pathologie très fréquente. Environ 25% des femmes saignent durant le premier trimestre de leur grossesse et 50% de ces grossesses évolueront favorablement. L'autre moitié comprendra en majorité des grossesses Intra-Utérines (GIU) avortées ou en cours d'avortement (Everett, 1997 ; De Poncheville, 2003 ; Dreyfus, 2010 ; Lykke et al., 2010 ). Une étude menée par Yang et al (2004) a indiqué un taux de métrorragies de 24,4% sur l'ensemble des grossesses, dont 77,3% au premier trimestre. L'avortement spontané complique 15 à 20% des grossesses. Il se traduit par des métrorragies plus ou moins abondantes, associées ou non à des contractions utérines, cette complication menace une grossesse jusqu'à 20 SA (De Tourris et al., 2000 ; Coquel et al.,2010).

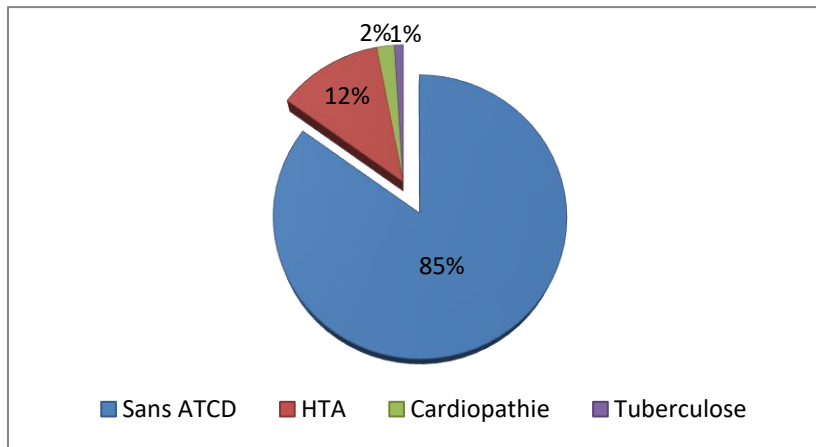
Le passage des hématies fœtales dans la circulation maternelle documenté selon le moment de la grossesse et de l'accouchement : 4% au premier trimestre, 12 % au 2 trimestre, 45 % au 3<sup>ème</sup> trimestre et 60 % des grossesses à l'accouchement (Mannessier et al., 1988). Il existe peu de données sur les conséquences fœtales en lien avec une allo-immunisation anti-D comme les morts fœtales *in utero* (MFIU), les anémies fœtales, les fausses couches spontanées.

Une étude de Brossard et al. (2003) a montré qu'il existe une association entre l'anti-D et la perte de grossesse avec une fréquence de 29% en cas de fausses couches spontanées.

### **1.5 Répartition des patients selon les antécédents médicaux**

#### **1.5.1 Antécédents personnels**

Nous avons recherché la présence des ATCD médicaux chez toutes les patientes recrutées dans notre étude. La majorité des patientes ne représente aucun antécédent personnel (85%). L'HTA est considéré comme le premier et le plus fréquent des antécédents médicaux avec une fréquence de 12% par rapport à la cardiopathie et la tuberculose qui ont respectivement 2% et 1% (Figure 18).



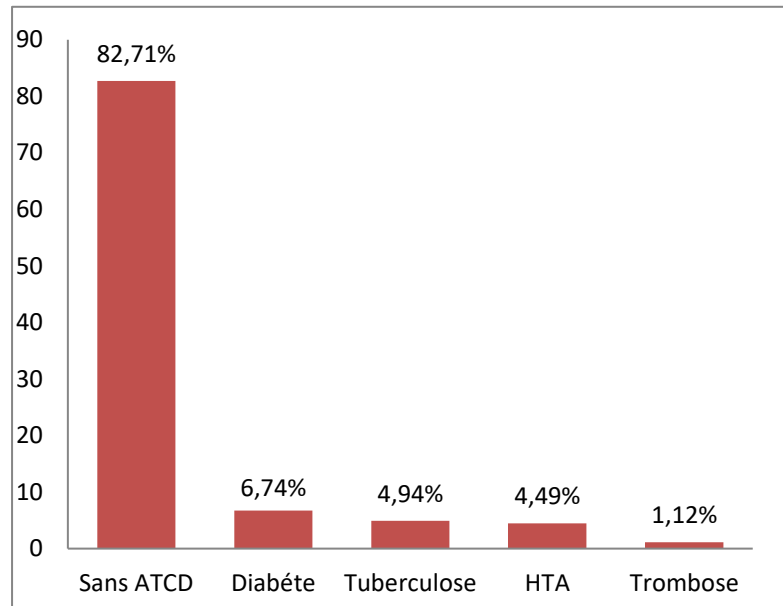
**Figure 18 :** Répartition des patientes selon les ATCD personnels médicaux.

Nos résultats concordent parfaitement avec les données de la littérature. L’HTA au cours de la grossesse constitue une cause majeure de morbidité et de mortalité fœtale dans les pays occidentaux. Il a été estimé qu’environ 10% des grossesses se compliquent d’une HTA (1% : HTA chronique préexistante à la grossesse, 7% : HTA gravidique, 2% : prééclampsie) (Sibai ,1996). Une méta-analyse publiée avait analysé les risques de complications de la grossesse en lien avec l’HTA chronique, cette dernière était le facteur de risque maternel le plus important de MFIU (Aagaard-Tillery et al., 2006) .

Concernant la cardiopathie, une grande série canadienne, qui a été réalisé sur 276 grossesses, a décrit un taux de 7,2% (20/276) de pertes fœtales avant 20 SA. La même équipe a publié en 2002 une série plus importante (334 grossesses), et ont noté une augmentation du taux de FC, et une tendance à l’augmentation des pertes fœtales après 12 SA en cas de cardiopathies (Siu et al., 2002).

### 1.5.2 Répartition des patientes selon les antécédents familiaux

Nous avons fait une distribution de l’ensemble de l’échantillon étudié en fonction des antécédents familiaux (Figure 19).



**Figure 19 :** Répartition des patientes selon les antécédents familiaux.

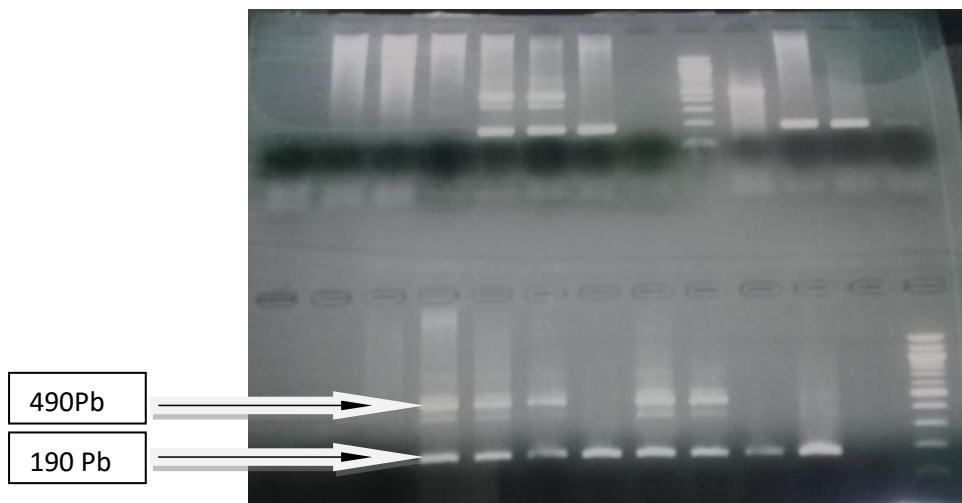
Selon l’histogramme, les ATCD familiaux de grossesse arrêtée chez nos patientes sont retrouvés dans 17,29% des cas, ces antécédents incluent le diabète, la tuberculose, l’HTA et la thrombose, mais la fréquence des patientes sans ATCD est la plus représentée (82,71%).

Ce qui concerne l’HTA familiaux, Toure et al. (1997) montre que le risque d’éclampsie est très élevé chez les femmes ayant un antécédent familial d’HTA. Au Niger elle a été estimée à 8,9 % (Tourte et al., 1997). En Asie, une enquête nationale chinoise rapporte un taux de 9,4 % (Cadre ,2000). Dans les pays développés, ce taux varie de 9,3 % en France, 10,8 % au Royaume-Uni, 10-15 % aux U.S.A. (Cadre, 2000).

## **2. Résultats de l’étude moléculaire (profils génotypiques du polymorphisme insertion/ délétion de l’ECA)**

Après électrophorèse sur gel d’agarose des produits de PCR, 3 génotypes ont été obtenus (Photographie 1) :

- l’homozygote « DD » est caractérisé par la présence d’une seule bande de 190 pb.
- l’hétérozygote « DI » est précisée par la présence de deux bandes de 490 pb et 190 pb.
- l’homozygote « II » est définie par la présence d’une seule bande de 490 pb.



**Photographie 1 :** Profil électrophorétique des fragments amplifiés par PCR du gène *ECA* sur gel d'agarose 2%

### 2.1 Répartition des fréquences génotypiques et alléliques du gène *ECA*

Selon les résultats obtenus, aucune différence significative n'a été observé entre 1 polymorphisme del/ins du gène *ECA* et la grossesse arrêtée n'a été observée (Tableau 5) et ne peut être dans ce cas être considéré comme un facteur de risque pour la grossesse arrêtée.

**Tableau 5:** Répartition des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme I/D du gène *ECA* et risque de grossesse arrêtée.

		Patientes		Témoins		OR	P-value
		n	%	n	%		
Fréquences génotypiques	DD	7	70	5	45,45	/	/
	DI	2	20	5	45,45	0,29 [0,02-,95]	0,43
	II	1	10	1	9,10	0,7 [0,01-5,30]	0,58
Fréquences alléliques	Allèle D	28	80	15	68,17	/	/
	Allèle I	4	20	7	31,82	0,31 [0,06-,44]	0,16

Des méta-analyses réalisées sur 350 à 2164 patientes ayant des FCR ont montré une augmentation de la fréquence de certains polymorphismes. Parmi ces 20 polymorphismes étudiés, seuls 5 semblent avoir un impact sur la survenue des FCR, Parmi ces polymorphismes Ins/Del du gène *ECA* (Gallot et al., 2014).

Ce polymorphisme correspond soit à une délétion ou insertion d'une séquence de 190 pb, ce qui reflète l'existence de deux allèles : I (Insérée) de 490 pb et D (Délété) de 190 pb (Rigat et al., 1992).

Selon les résultats obtenus, le génotype homozygote sauvage (DD) est le prédominant dans la population malade avec une fréquence de 70%, par rapport aux témoins (45,45%). Alors que le génotype hétérozygote (DI) des témoins (45,45%) est plus fréquent que la population malade (20%). Cependant, la fréquence du génotype homozygote muté (II) est semblable entre les deux populations étudiées (patients et témoins) respectivement de 10% et 9,10%.

Au même titre que le génotype DD, l'allèle D est le plus représenté dans les deux groupes patients et témoins, avec des fréquences respectives de 80% et de 68,16% versus 20% et 31,82% pour l'allèle I (Tableau 5).

Nos résultats sont en accord avec plusieurs études antérieures. L'étude réalisée par Vettriselvi et al (2008) a révélé une absence d'association entre le polymorphisme de l'ACE et la grossesse arrêtée chez les femmes du sud de l'Inde. De même, Goodman et al. (2009) et Yenicesu et al. (2009) ont déclaré que ce SNP du gène ECA n'est pas un facteur de risque de fausses couches spontanées à répétition chez une population de patientes américaines. Aucune association significative n'a été observée entre ce SNP et la survenue d'une grossesse arrêtée au premier trimestre chez une population de femme originaire de Gaza (Palestine) (Al Sallout and Sharif, 2010) et chez un échantillon de femmes d'origine turque (Bagheri et al., 2010). Il en est de même pour ce qui a été publié par Corbo et al. (2011). Pareillement, les études entreprises par Jeon et al. (2013) et Kim et al. (2014) Zonouzi et al. (2013) ont noté que ce polymorphisme n'est pas un déterminant majeur du développement de la grossesse arrêtée chez les femmes coréennes et iraniennes, respectivement. En outre, Perez et al. (2015) et Yalcintepe et al. (2015) ont rapporté qu'aucune différence statistiquement significative n'a été observée dans la distribution des fréquences génotypiques et alléliques quelque soit le modèle génétique étudié entre les femmes avec avortement spontané à répétition idiopathique (IRSA) et les femmes témoins ou entre les femmes ayant un IRSA primaire et secondaire de la population slovanienne et turque, respectivement. En 2016, les résultats obtenus par Kurzawińska et al. (2016) et par Shakarami et al. suggèrent aucune association apparente entre le polymorphisme de l'ECA et la susceptibilité accrue à la fausse couche à répétition dans les populations polonaise et iranienne analysées. De plus, Heidari et al. (2017) et Chatzidimitriou et al. (2017), selon leurs études effectuées sur un échantillon de population iranienne et grecque, respectivement, le polymorphisme en question ne peut être considéré comme un facteur de risque de la pathologie étudiée.

Néanmoins, de nombreuses études divergent avec nos résultats en Italie (Fatini et al., 2000), en Allemagne (Buchholz et al., 2003), en Autriche (Dossenbach-Glaninger et al., 2008), Allemagne (Bukreeva et al., 2009), Iran (Aarabi et al., 2011); Corée (Choi et al., 2011), Turquie (Ozdemir et al., 2012), Chine (Zhang et al., 2011); Iran (Fazelnia et al., 2016), en Mexique (López-Jiménez et al., 2016) qui ont constaté une association positive entre l'Ins/del de l'intron 16 du gène ACE et l'avortement spontané à répétition.

Trois méta-analyses réalisées en 2012 (Yang et al.) et 2013 (Su et al. ; Wang et al.) qui ont déclaré un effet positif de ce polymorphisme sur l'augmentation du risque d'avortement à répétition.

Aslbahar et al. (2018) ont également effectué une méta-analyse d'un total de 26 études cas-témoins portant sur 3 140 cas de perte de grossesse récurrente (PGR) et 3 370 témoins et ont rapporté une association significative entre le polymorphisme ECA I/D et le risque de PGR. Dans cette même étude, une analyse de sous-groupe par appartenance ethnique a montré qu'il existait une association significative entre le polymorphisme ACE I/D et un risque accru de PGR chez les populations de race blanche et d'Asie occidentale, mais pas chez les Asiatiques de l'Est.

L'explication suggérée par ces études qui ont déclaré une association positive réside dans le fait que les membranes placentaires et fœtales sont d'importants sites de production d'ECA et d'angiotensinogène (AGT) et contiennent de fortes concentrations de récepteurs de l'angiotensine II. Ils sont impliqués dans l'hémostase à travers plusieurs mécanismes, dont la fibrinolyse, l'agrégation plaquettaire et la coagulation du sang. En plus des fonctions vasomotrices, le système rénine-angiotensine est également impliqué dans les événements clés du processus inflammatoire en augmentant la perméabilité vasculaire en contribuant au recrutement de cellules inflammatoires. La présence de l'allèle D ou du génotype D/D du gène ECA est corrélée à une activité plasmatique élevée de l'ECA. Cette condition diminue la capacité de fibrinolyse ou augmente la tendance à la thrombose. En ce qui concerne l'hémostase, l'inflammation et la coagulation, plusieurs réactions sont modulées par le système rénine-angiotensine (Su et al., 2012).

Les résultats obtenus dans la majorité des études décrivant ce polymorphisme génétique en association avec l'avortement à répétition sont contradictoires. Cela est dû en partie au fait que les associations peuvent varier selon les différentes populations ethniques (origines génétiques) et qu'elles peuvent être biaisées en raison de la petite taille des échantillons. L'une des raisons de la petite taille de l'échantillon est que ce type de pathologie est relativement rare et peut ne pas dépasser 1% chez les femmes. Une autre préoccupation concerne le choix

d'un bon groupe de témoins. Certaines autres études portant sur des femmes atteintes de FCS ont utilisé des témoins appariés pour comparer les fréquences génotypiques.

Nos résultats ne peuvent être concluants que si la taille de la population d'étude sera plus importante.



La grossesse arrêtée est une des complications les plus gênantes de la grossesse qui correspond à la perte naturelle de la grossesse. L'étude des facteurs de risque et les marqueurs génétiques impliqués dans l'étiologie de la grossesse arrêtée a fait l'objet de plusieurs études et travaux de recherches dans le monde. De même, plusieurs recherches ont été menées pour rechercher l'association possible de la grossesse arrêtée avec le polymorphisme I/D dans l'intron 16 du gène *ECA*. Ce dernier est proposé comme gène candidat dans des nombreuses maladies courantes et les taux plasmiqes d'*ECA* étaient associés à ce polymorphisme d'insertion (I) / délétion (D). L'*ECA* représente l'une des causes majeures de mortalité fœtale pendant la grossesse.

Notre étude a permis d'identifier des facteurs de risque impliqués dans la survenue de la grossesse arrêtée, tels que l'âge (30-40 ans), la présence d'antécédents personnels d'HTA, du diabète, la présence d'antécédents obstétricaux : parité (nullipares et paucipares). Les résultats obtenus par l'étude des caractéristiques épidémiologiques concordent avec ce qui rapporté dans la littérature.

L'exploration génotypique du polymorphisme I/D de l'*ECA* nous a permis d'obtenir les répartitions des fréquences génotypiques respectives chez les patients et les témoins : (DD 70%, ID 20% et II 10%) et (DD 45,45%, ID 45,45% et II 9,10%) ainsi que les fréquences alléliques (D 80%, I 20%) et (D 68,18%, I 31,82%,) chez les patientes FCS et les témoins, respectivement.

Nous pouvons conclure que le génotype DD et l'allèle D était plus répandu chez les femmes atteintes de FC. Une nette prédominance du génotype DD (70%) a été observée chez les femmes atteintes par rapport aux femmes témoins (45,45%). Selon nos résultats, aucune association significative n'a été observée entre le polymorphisme étudié et la GA ; mais ces résultats ne peuvent être généralisée à l'ensemble de la population algérienne, vu la taille de l'échantillon très réduite.

Comme perspectives de notre travail, il serait intéressant de poursuivre la recherche sur ce thème en :

- élargissant la taille de l'échantillon étudié,
- de continuer l'étude sur le gène *ECA*, d'étudier sa fonction ce qui va permettre de mieux comprendre l'étiologie et peut mener à la découverte de nouvelles cibles thérapeutiques et de diagnostique de cette pathologie.

- d'effectuer une analyse cytogénétique des patientes diagnostiquées avec un avortement spontané à répétition.

Comme la perte de grossesse récurrente est un trouble complexe dans lequel, les origines génétiques et les facteurs environnementaux interagissent pour déterminer sa pathogenèse, des études supplémentaires sont donc nécessaires pour rechercher les influences potentielles d'autres polymorphismes des gènes impliqués dans la pathogenèse de la GA, susceptibles d'être affectées par des interactions gène-gène et gène-environnement.

- Aagaard-Tillery, K. M., Holmgren, C., & Satterfield, R .** (2006). Factors associated with nonanomalous stillbirths: the Utah Stillbirth Database 1992-2002. *Am J Obstet Gynecol.*,194 (3), 849-854.
- Aarabi, M., Memariani, T., & Modarressi, M. H.** (2011). Polymorphisms of plasminogen activator inhibitor-1, angiotensin converting enzyme and coagulation factor XIII genes in patients with recurrent spontaneous abortion. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 24(3), 545-548.
- Al Sallout RJ, Sharif FA.** (2010). Polymorphisms in NOS3, ACE and PAI-1 genes and risk of spontaneous recurrent miscarriage in the Gaza Strip. *Med Princ Pract.* 19(2):99-104.
- Alain, R., Sylvie, T.** (2007). *Anatomie et physiologie*, Paris. p281.
- Alexander, S., Debière, F., & Masson, U.** (2009). *Guide de consultation prénatale*. 1<sup>ère</sup> édition, Paris. p22. Groupement des gynécologues obstétriciens de langue française de Belgique.
- Allen, LH.** (1997). Pregnancy and iron deficiency: unresolved issues. *Nutr Rev*, 55, 91-101.
- Alsat, E., Évain-Brion, D.** (1999). Le placenta humain: neuf mois d'une intense activité encore méconnue. *Médecine thérapeutique Pédiatrie*, 4, 35-825.
- Andersen, A. M. N., Wohlfahrt, J., & Melbye, M.** (2000). Maternal age and fetal loss: population based register linkage study. *Bmj*, 320(7251), 1708-1712.
- Anemia Working Group.** (1999). L'anémie pendant la grossesse. *Med Hyg*, 57, 1502-5.
- Arne, S., Nicole, M.** (2004). *Anatomie physiologie biologie*, 2<sup>ème</sup> édition, Paris. pp 404 -407.
- Aslbahar, F., Neamatzadeh, H., Tabatabaiee, RS., Karimi-Zarchi, M., Javaheri, A., Mazaheri, M., Foroughi, E., Nasiri, R.** (2018). Association of Angiotensin-Converting Enzyme Insertion/Deletion Polymorphism with Recurrent Pregnancy Loss: a Meta-Analysis of 26 Case-Control Studies. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 40(10):631-641.
- Aslbahar, F., Neamatzadeh, H., & Nasiri, R.** (2018). Association of Angiotensin-Converting Enzyme Insertion/Deletion Polymorphism with Recurrent Pregnancy Loss: a Meta-Analysis of 26 Case-Control Studies. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 40(10), 631–641.

- Bagheri M, Abdi Rad I ., & Nanbaksh F.** (2010). Polymorphisms of the angiotensin converting enzyme gene in Iranian Azeri Turkish women with unexplained recurrent pregnancy loss. *Hum Fertil (Camb)*.13(2):79-82.
- Bandyopadhyay, A. R., Chatterjee, D., & Ghosh, J. R.** (2011). Maternal fetal interaction in the ABO system: a comparative analysis of healthy mother and couples with spontaneous abortion in Bengalee population. *Am J Hum Biol*, 23(1), 76-79.
- Baudin, B.** (2005). Angiotensin I-converting enzyme (ACE) for sarcoidosis diagnosis. *Pathol. Biol. (Paris)* 53, 183–188.
- Belenfant, X., Pallot, J.L., & Saint Leger, S.** (2004). Insuffisance rénale aigue et grossesse. *Encyclopédie médico chirurgicale- néphrologie*, 1(2), 44-55.
- Belley Priso, E., Moifo, B., & Mboudou.** (2010). Apport de l'échographie en urgence dans la prise en charge des métrorragies du premier trimestre de la grossesse. *E Afr Imag Med*; (3),3: 187-196.
- Benirschke, K., Kaufmann, P.** (1990). Basic structure of the villous tree. In: Benirschke K, Kaufmann P, eds. *Pathology of the human placenta*, New York. pp 22-70.
- Berrut, G., Ghali, A., & Fressinaud, P.** (2003). La mutation C677T du gène de la 5, 10-méthyltétrahydrofolate réductase est associée aux thromboses veineuses idiopathiques. *La Revue de médecine interne*, 24(9), 569-576.
- Blohm, F., Fridén, B & Milsom, I.** (2008). A prospective longitudinal population-based study of clinical miscarriage in an urban Swedish population. *BJOG*, 115(2), 176-183.
- Boco, V., Akpovi, J., & Perrin, R.** (1997). Intérêt de l'échographie dans les métrorragies du premier trimestre de la grossesse. *Médecine d'Afrique Noire*, 44 (2), 97-100.
- Bogdanova, N., Horst, J., & Markoff, A.** (2007). A common haplotype of the annexin A5 (ANXA5) gene promoter is associated with recurrent pregnancy loss. *Hum Mol Genet*, 16(5), 573-578.
- Borgel, D., Alhenc-Gelas, M., & Gandrille, S.** (2007). Diagnostic du déficit en protéine S. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*. 22(6):366-72.
- Boue J.G., Boue A.** (1976). Chromosomal anomalies in early spontaneous abortion, (Their consequences on early embryogenesis and in vitro growth of embryonic cells) *Curr Top Pathol* ; 62 : 193-208
- Briggs Le, J., McKeown, GG., & Bustillo, G.** (2004). Urinary tract infections during pregnancy. *Ann Pharmacother*, 38, 1692-701.
- Brigham, S. A., Conlon, C & Farquharson., RG.** (1999). A longitudinal study of pregnancy outcome following idiopathic recurrent miscarriage. *Hum Reprod*, 14(11), 2868-2871

- Brossard, Y., & Poissonnier, M. H.** (2003). Allo-immunisation foeto-maternelle anti-D. À propos d'une enquête nationale d'observation des pratiques de prévention par Ig anti-D dans le pré-partum. *Gynecol Obstet*, 473, 19-24.
- Buchholz, T., Lohse, P., & Thaler, C. J.** (2003). Polymorphisms in the ACE and PAI-1 genes are associated with recurrent spontaneous miscarriages. *Hum Reprod*, 18 (11), 2473-2477.
- Bukreeva, L., Grigorov, A., & Hoppe B.** (2009). Association of angiotensin-converting enzyme intron 16 insertion/deletion polymorphism with history of foetal loss. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 10(4):237-40.
- Burton, G.J., Fowden, A.L.** (2015). Le placenta : un organe multiforme et transitoire, transactions philosophiques de la Royal society B : sciences biologiques, 370 (1663).
- Camara, L.** (2008). Contribution a la prise en charge des hémorragies du premier de la grossesse au centre de sante de la commune IV. Thèse de médecine. N 171.
- Cambien, F., Poirier, O., & Evans, A .** (1992). Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature* ; 359: 641-644.
- Capmas, P., Thellier, E., & Fernandez, H.** (2014). Prise en charge d'un antécédent de fausse couche tardive (14 à 22SA). *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de La Reproduction*, 43(10), 856–864.
- Chaliha, C., Stanton, S.L.** (2002). Urological problems in pregnancy: *BJU Int.* 89,469 - 476.
- Chassagnol-Clausade, P.** (2008). Les nausées et les vomissements. *Act Pharm*, 47(477), 8-12.
- Chatzidimitriou M, Chatzidimitriou D, Mavridou M, Anetakis C, Chatzopoulou F, Lialiaris T, Mitka S.** (2017). Thrombophilic gene polymorphisms and recurrent pregnancy loss in Greek women. *Int J Lab Hematol.* 39(6):590-595.
- Chehadeh, S. W. E. H., Jelinek, H. F., Al Mahmeed, W. A., Tay, G. K., Odama, U. O., Elghazali, G. E., & Al Safar, H. S.** (2016). Relationship between MTHFR C677T and A1298C gene polymorphisms and complications of type 2 diabetes mellitus in an Emirati population. *Meta gene*, 9, 70-75.
- Choi HD, Suh JH, Lee JY, Bae SK, Kang HE, Lee MG, Shin WG.** (2013). Effects of ACE and ADD1 gene polymorphisms on blood pressure response to hydrochlorothiazide: a meta-analysis. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 51(9):718-24.
- Christiansen, O. B., Steffensen, R., Nielsen, H. S., & Varming, K.** (2008). Multifactorial etiology of recurrent miscarriage and its scientific and clinical implications. *Gynecol Obstet Invest*, 66(4), 257-267.

**Clere, N.** (2019). Prise en charge officinale des maux bénins durant la grossesse. *Actualités Pharmaceutiques*, 58(583), 41–43.

**Clifford, K., Rai, R., & Regan, L.** (1994). Pregnancy: An informative protocol for the investigation of recurrent miscarriage: preliminary experience of 500 consecutive cases. *Hum reprod*, 9(7), 1328-1332.

**Cocksedge, K.A., Saravelos, S.H., & Li, T.C.** (2009). How common is polycystic ovary syndrome in recurrent miscarriage? *Reprod Biomed Online*; 11:572–6.

**Colley, E., Hamilton, S., & Allen, S.** (2019). Potential genetic causes of miscarriage in euploid pregnancies: a systematic review. *Hum Reprod Update*. 1;25(4):452-472.

**Coquel, P, Bault, J-P., & Ville, Y.** (2010). Douleurs pelviennes et métrorragies au cours du premier trimestre. Dans Coquel P, Bault J-P, Ville Y, eds. *Pratique de l'échographie obstétricale au premier trimestre*. 2ème ed. Montpellier : Sauramps Médical ; p.57-75.

**Coulibaly, N.** (2006). Etude des hémorragies du premier trimestre de la grossesse au centre de sante de référence de la commune V, thèse de médecine ; N°219

**Daniel, R., Patrick, C., & Thierry, S.** (2011). *Mémo Visual de biologie*, Paris. p212-214.

**Dawson, S., Hamsten, A., & Humphries, S.** (1991). Genetic variation at the plasminogen activator inhibitor-1 locus is associated with altered levels of plasma plasminogen activator inhibitor-1 activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1991;11:183–190.

**De Poncheville L.** (2003). *Conduite à tenir devant des métrorragies du premier trimestre de la grossesse*. EMC .

**De Tourris ,H., Magnin ,G., & Pierre F.** (2000). *Pathologie non cancéreuse du col de l'utérus. Avortements spontanés - Accouchement prématuré, néonatalogie – Maladie Trophoblastique*. eds. *Gynécologie et obstétrique, manuel illustré*. 7ème ed. Paris.p- 340-2.

**Dee unglaub, S.** (2007). *Physiologie humaine*, paris .p814.

**Delabaere, A., Huchon, C., & Barasinski, C.** (2014). Épidémiologie des pertes de grossesse. *Journal de gynécologie obstétrique et biologie de la reproduction*, 43(10), 764-775.

**Deneux-Tharoux Inserm.** (2012). « recherches épidémiologiques en santé périnatale, santé des femmes et des enfants », UPMC, maternité de Port-Royal, 53, avenue de l'Observatoire, 75014 Paris, France Disponible sur Internet le 2 novembre.

**Derbré, S., Le clerc, M.V.** (2014). Prise en charge des vomissements, diarrhées et constipation par les thérapeutiques complémentaires et alternatives. *Actualités Pharmaceutiques*, 53(534), 47–52.

- Diall, A. A.** (2011). Etude des aspects pharmaco-épidémiologiques des inhibiteurs de l'enzyme de conversion au CHU du point G. thèse pour l'obtention du doctorat en pharmacie : faculté de médecine de pharmacie et d'odontostomatologie, 98p.
- Diancoumba, M.** (2008). Avortements spontanés : prise en charge aux centres de santé de référence des communes et du district. (Thèse de doctorat, la faculté de médecine de pharmacie et d'odontostomatologie, Bamako, Province ou Pays).
- Dossenbach-Glaninger A, van Trotsenburg M., & Hopmeier P.** (2008). ACE I/D polymorphism and recurrent first trimester pregnancy loss: interaction with SERPINE1 4G/5G and F13 Val34Leu polymorphisms. *Br J Haematol.* 141(2):269-71.
- Doubilet, P.M.** (2013). Diagnostic criteria for nonviable pregnancy early in the first trimester. *N Engl J Med* ;369:1443-51
- Dreyfus, M.** (2010). Les métrorragies du premier trimestre de la grossesse : de la modernité dans la banalité. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)* 2010 ; 39.
- Duttaro Y, A. K.** (2009). Transport des acides gras à travers le placenta humain: une revue. *Progress in Lipid Research*, 48 (1), 52–61.
- Elaine, N., Marieb.** (2008). Biologie humaine .Principes d'anatomie et de physiologie. Paris. p580.
- Eric, P., Hershel, R., & T.Strang.** (2013). Physiologie humaine : les mécanismes de fonctionnement de l'organisme. 6<sup>e</sup> édition, Paris. p619.
- Eva, A., Istvan, B., & Laszlo, M.** (2002). Severe coagulation factor V deficiency caused by 2 novel frameshift mutations. *Blood*, Vol 99, N° 2.
- Everett, C.** (1997). Incidence and outcome of bleeding before the 20th week of pregnancy: prospective study from general practice. *Bmj* 315(7099),32-34.
- Fatini, C., Gensini, F., & Abbate R.** (2000). Angiotensin-converting enzyme DD genotype, angiotensin type 1 receptor CC genotype, and hyperhomocysteinemia increase first trimester fetal-loss susceptibility. *Blood Coagul Fibrinolysis* 11: 657–662.
- Fazelnia, S., Farazmandfar, T., & Hashemi-Soteh, SM.** (2016). Significant correlation of angiotensin converting enzyme and glycoprotein IIIa genes polymorphisms with unexplained recurrent pregnancy loss in north of Iran. *Int J Reprod Biomed (Yazd)*. 14(5):323-8.
- Fennira, S., Khaldi, M. H., Rejeb, M. A., Ellouze, Y., Kraiem, S., & Slimane, M. L.** (2011). La prise en charge thérapeutique des troubles du rythme cardiaque au cours de la grossesse. *Annales de cardiologie et d'angiologie* ,60(2), 97-101.
- Ferhane, S.** (2016). le facteur V leiden ou phenotype de résistance à la protéine C activée. (Thèse de doctorat, Université Mohammed V-Rabat faculté de médecine et de pharmacie.

- Folio, M., Ginsburg, D.** (1989). Structure and expression of the human gene encoding plasminogen activator inhibitor, PAI-1. *Gene* 84: 447-453.
- Frosst, P., Blom, H.J., & Milos, R.** (1995). A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet*; 10 : 111-3.
- Furfaro, M., Maragliano, G.** (1977). Possible correlation between the blood groups of the ABO system and Rh(D) factors and abortion. *Minerva Ginecol.* 29(4):309-10.
- Gallot, V., Nedellec, S., & Vialard, F.** (2014). Fausses couches précoces «à répétition»: bilan et prise en charge. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction*, 43(10), 812-841.
- Gardier, S.** (2004). Gènes codant pour le Récepteur de Type 1 à l'Angiotensine II (AGTR1) et pour l'Aldostérone Synthase (CYP11B2): Hypertension Artérielle et Variables de Retentissement Cardiovasculaire chez l'Homme (Thèse de doctorat, Université Claude Bernard-Lyon I. Paris).
- Gifford, R., August, W., & Taler, S. J.** (2000). Natl High Blood Pressure Educ P. Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* , 183,1-22.
- Glueck, C.J., Wang, P., & Sieve, L.** (2004). Pregnancy loss, polycystic ovary syndrome, thrombophilia, hypofibrinolysis, enoxaparin, metformin. *Clin Appl Thromb Hemost* 2004;10: 323–334.
- Goodman, C., Hur, J., & Coulam, C.** (2009). Are polymorphisms in the ACE and PAI-1 genes associated with recurrent spontaneous miscarriages? *Am J Reprod Immunol.* Dec;62(6):365-70.
- Goyette, P., Pai, A., & Rozen, R.** (1998). Gene structure of human and mouse methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). *Mamm Genome*, 9(8), 652-656.
- Goyette, P., Sumner, J. S., & Rozen, R.** (1994). Human methylenetetrahydrofolate reductase: isolation of cDNA, mapping and mutation identification. *Nature genetics*, 7(2), 195.
- Griebel, C. P., Halvorsen, J., & Day, A. A.** (2005). Management of spontaneous abortion. *Am Fam Physician*, 72(7), 1243-1250.
- Griffin, J.H., Fernandez, J. A., & Mosnier, L. O.** (2007). Activated protein C. *J Thromb Haemost* ;5(1):73-80.
- Gris, J.C., Quere, I., & Tailland, M.C.** (1999). Case-control study of the frequency of thrombophilic disorders in couples with late fetal loss and no thrombotic antecedent, The



Nimes Obstetricians and Haematologists Study 5 (NOHAS5). *Thromb Haemost* ;81:891–9.

**Guimaraes, P.B., Alvarenga, E.C., & Siqueira, P.D.** (2011). Angiotensin II binding to angiotensin I-converting enzyme triggers calcium signaling. *Hypertension*; 57(05):965–972.

**Harb, H.M., Ghosh, J., & Coomarasamy, A.** (2019). Hydrosalpinx and pregnancy loss: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biomed Online*, 38(3):427-441

**Heidari MM, Sheikholeslami M., & Seyedhassani SM.** (2017). The association of renin-angiotensinogen system genes polymorphisms and idiopathic recurrent pregnancy loss. *Hum Fertil (Camb)*. 23:1-7.

**Heude, B., Lafay, L., & Romon, M.** (2003). Time trend in height, weight, and obesity prevalence in Northern France *Diabetes Metab*, 29,35–40.

**Hirahara, F., Andoh, N., & Minaguchi, H.** (1998). Hyperprolactinemic recurrent miscarriage and results of randomized bromocriptine treatment trials. *Fertil Steril* ;70: 246–52.

**Hoekstra, T., Geleijnse, J. M., & Schouten, E. G.** (2003). 4G/4G Genotype of PAI-1 Gene Is Associated With Reduced Risk of Stroke in Elderly. *Stroke*, 34(12), 2822–2828.

**Ihara, M., Urata, H., & Arakawa, K.** (1999). Increased chymase-dependent angiotensin II formation in human atherosclerotic aorta. *Hypertension*, 33(6), 1399-1405.

**Jacques, P.F., Bostom, A.G., & Williams, R.R.** (1996). Relation between folate status, a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase, and plasma homocysteine concentrations. *Circulation* ; 93 : 7-9.

**Jadli, A., Kulkarni, B., & Shetty, S.** (2015). High heterozygosity frequency of three exonic SNPs of factor V gene (F5): implications for genetic diagnosis. *Indian J Med Res*. 142(1):85.

**Jauniaux, E., Johns, J., & Burton GJ.** (2005). The role of ultrasound imaging in diagnosing and investigating early pregnancy failure. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 25(6):613-24

**Jeon, Y.J., Kim, J.H., & Kang, H.** (2013). Association between polymorphisms in the renin-angiotensin system genes and prevalence of spontaneously aborted fetuses. *Am J Reprod Immunol*. ; 70:238–45.

**Karambe, O.** (2015). Avortements : Prise en charge dans le service de gynécologie obstétrique de l'hôpital Nianankoro Fomba de Segou. (THESE de doctorat, la Faculté de Médecine et d'Odontologie, BAMAKO, Américain).

- Kim, DK., Kim, JW., & Huh, JE.** (1997). Polymorphism of angiotensin converting enzyme gene is associated with circulating levels of plasminogen activator inhibitor-1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* ; 17:3242–7
- Kim, S., Ohta, K., & Iwao, H.** (1995). Angiotensin II type I receptor antagonist inhibits the gene expression of transforming growth factor-beta 1 and extracellular matrix in cardiac and vascular tissues of hypertensive rats. *J Pharmacol Exp Ther.*, 273(1), 509-515.
- Klinger, K.W., Winqvist, R., & Riccio, A.** (1987). Plasminogen activator inhibitor type 1 gene is located at region q21.3- q22 of chromosome 7 and genetically linked with cystic fibrosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 84: 8548-8552.
- Kupferminc, MJ., Eldor A., & Lessing JB.** Increased frequency of genetic thrombophilia in women with complications of pregnancy. *N Engl J Med* 1999; 340: 9-13.
- Langman, J.** (1976). Embryologie médicale développement humain normal et pathologique. 3<sup>e</sup> édition, Paris. p94-95.
- Lansac, J., Evrard, N.** (2011). Le grand livre de ma grossesse, collège national des gynécologues et obstétriciens, Paris. p84
- Laraqui, A.** (2006). ). Etude des Facteurs Métaboliques et Polymorphismes Génétiques Prédisposant à la Survenue de l'Athérosclérose Coronaire. (Thèse de doctorat, université Mohammed V-AGdal, faculté des sciences Rabat, Maghreb).
- Lassere, M., Empson, M.**(2004). Treatment of antiphospholipid syndrome in pregnancy—a systematic review of randomized therapeutic trials. *Thrombosis research*, 114(5-6), 419-426.
- Lauritsen, JG., Grunnet, N., & Jensen OM.** Materno-fetal ABO incompatibility as a cause of spontaneous abortion. *Clin Genet.* 1975 Apr;7(4):308-16.
- Lavoue, V.** (2014). Recommandations françaises pour les critères diagnostiques d'arrêt de grossesse au premier trimestre et stratégie de prise en charge des patientes présentant une menace de fausse couche ou une grossesse arrêtée (hors évacuation utérine ). *J Gynecol Obstet Biol Reprod* ;43(10):776–93.
- Lawn, J. E., Blencowe, H., & Pattinson, R.** (2011). Stillbirths: Where? When? Why? How to make the data count? *The Lancet*, 377(9775), 1448-1463.
- Le jeune, V.** (2006). Fausses couches spontanées précoces répétées. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 34 (10) ,927–937
- Leclerc, A.M., Cloutie, L., & Michaud, S.G.** (2013). Traitement pharmacologique de l'HTA partie 2.

- Lefebvre, J.** (2008). Polymorphismes génétiques et variations interindividuelles de la réponse aux agents antihypertenseurs (Thèse de doctorat, Faculté de pharmacie, université Laval Québec, Canada) . 189p.
- Levi, Cs., Lyons, Ea., & Lindsay, DJ.** (1988). Early diagnosis of nonviable pregnancy with endovaginal US. *Radiology*; 167: 383–5.
- Liu, Y., Zhang, F & Dai, L.** (2019). C677T polymorphism increases the risk of early spontaneous abortion. *J Assist Reprod Genet.* 17.
- López-Jiménez, JJ., Porras-Dorantes, Á., & Jaloma-Cruz AR.** (2016). Molecular thrombophilic profile in Mexican patients with idiopathic recurrent pregnancy loss. *Genet Mol Res.* 5;15(4).
- Lykke, JA., Lehrmann Dideriksen, K., & Langhoff-Roos, J.** (2010). First-trimester vaginal bleeding and complication later in pregnancy. *Obstetrics & Gynecology* ; 115 : 935-44.
- Maconochie, N., Doyle, P., & Simmons, R.** (2007). Risk factors for first trimester miscarriage—results from a UK-population-based case–control study. *BJOG*, 114(2), 170-186.
- Makino, T.** (2002). Recurrent reproductive wastage immunologic factors. *Am J Reprod Immunol* ; 48:266–8.
- Malassiné, A., Tarrade, A., & Évain-Brion, D.** (2000). *Le placenta*, Paris. p330.
- Mannessier, L., Alie-Daran, S.** (1988). La prévention de la maladie hémolytique du foetus et du nouveau-né : il faut agir ! *Gynecol Obstet Reprod*; 29: 411-4.
- Many, A., Elad, R., & Kupferminc, M.J.** (2002). Third trimester unexplained intrauterine fetal death is associated with inherited thrombophilia. *Obstet Gynecol* ;99:684–7.
- Martinelli, I., Taioli, E., & Villa, M.V.** (2002). Mutations in coagulation factors in women with unexplained late fetal loss. *N Engl J Med*;343:1015–8.
- Maruyama, K., Akiyama, M., & Miyata, T.** (2015). ELISA-based detection system for protein S K196E mutation, a genetic risk factor for venous
- McGeown, J.G.** (2002). *Physiologie L'essentiel*, paris. p354.
- Merlo, S., Novak, J., & Tkacova, N.** (2016). Association of the ACE rs4646994 and rs4341 polymorphisms with the progression of carotid atherosclerosis in slovenian patients with type 2 diabetes mellitus. *Balkan J Med Genet*;18(02):37–42.
- Merviel, P., Cabry, R., & Nasreddine, A.** (2012). Thrombophilies et fausses couches spontanées à répétition. *Réalités en gynécologie-obstétrique*, 165 ; Cahier 1.

- Mohangoo, A. D., Blondel, B., & Euro-Peristat Scientific Committee.** (2013). International comparisons of fetal and neonatal mortality rates in high-income countries: should exclusion thresholds be based on birth weight or gestational age. *PloS one*, 8(5), e64869
- Mokoko, G.** (1985). Les avortements spontanés: aspect socio-psychologique (Doctoral dissertation, Thèse Dakar)= **Camara, L.** (2008). Contribution a la prise en charge des hémorragies du premier trimestre de la grossesse au centre de sante de référence de la commune IV a propos de 200 cas. ( thèse de doctorat, université de BAMAKO, Mali).
- Moussalem, M., Sacy, R., & Schvedj, J. F.** (2001). Thrombose post-varicelle et mutation du facteur V Leiden. *Archives de pédiatrie*. 8(9):961-4.
- Muallem, M.M., Rubeiz, NG.** (2006). Physiological and biological skin changes in pregnancy. *Clin Dermatol*, 24, 80-83.
- Ogasawara, M., Aoki, K., & Suzumori, K.** (2000). Embryonic karyotype of abortuses in relation to the number of previous miscarriages. *Fertil Steril*; 73:300–4.
- Ozdemir, O., Yenicesu, GI., Silan, F., Köksal, B., Atik, S., Ozen, F., Göl, M & Cetin, A** (2012). Recurrent pregnancy loss and its relation to combined parental thrombophilic gene mutations. *Genet Test Mol Biomarkers*. 16(4):279-86.
- Patrushev, L.I., Zykova, E.S., & Severin, E.S.** (1998). New DNA diagnostic system for detection of factor V Leiden. *Thrombosis research*. 92(6):251-9.
- Pereza, N., Ostojić, S., & Peterlin, B.** (2016). Insertion/deletion polymorphism in intron 16 of ACE gene in idiopathic recurrent spontaneous abortion: case-control study, systematic review and meta-analysis. *Reprod Biomed Online*. 32(2):237-46.
- Petraglia, F., Florio, P., Torricelli, M.** (2006). Fonction endocrinienne placentaire. *Physiologie de la reproduction de Knobil et Neill*, Amsterdam. p2847-2897.
- Philippe E.** (1974). *Histopathologie placentaire* Ivol, Masson Ed, Paris, 247.
- Philippe, E.** (1984). Avortement spontané. *EMC*, 5075(10),12.
- Philippe, M., Jean-Claude, C., Jean-Michel, F & Serge, U.** (2001). *Implantation et placentation*, Paris. p7.
- Pihusch, R., Buchholz, T., & Hasbargen, U.** (2001). Thrombophilic gene mutations and recurrent spontaneous abortions: prothrombin mutation increases the risk in the first trimester. *Am J Reprod Immunol* ;46:124–31.
- Poort, S. R., Rosendaal, F. R., & Bertina, R. M.** (1996). A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood*, 88(10), 3698-3703.

- Poursadegh Zonouzi, A., Chaparzadeh, N., & Sakhinia, E.** (2013). The association between thrombophilic gene mutations and recurrent pregnancy loss. *J. Assist. Reprod. Genet.* 30, 1353–1359.
- Prata, N., Bell, S., & Melkamu, Y.** (2011). Factors associated with choice of post-abortion contraception in Addis Ababa, Ethiopia. *Afr J Reprod Health*, 15(3), 55-62.
- Preisler, J., Kopeika, J., & Johnson, S.** (2015). Defining safe criteria to diagnose miscarriage: prospective observational multicentre study. *Bmj*, 351, h4579.
- Rai, R.S., Clifford, K., & Cohen, H.** (1995). High prospective fetal loss rate in untreated pregnancies of women with recurrent miscarriage and antiphospholipid antibodies. *Hum Reprod* ;10(12):3301-4.
- Ramanah, R., Maillet, R., & Riethmuller, D.** (2009). Quels sont les risques obstétricaux pouvant justifier un traitement préventif. *Médecine de la Reproduction*, 11(2), 134-139.
- Rand, J. H.** (2000). The annexinopathies: a new category of diseases. *Biochim Biophys Acta)-Molecular Cell Research*, 1498(2-3), 169-173.
- Reitsma, P. H., Bernardi, F., & Saito, H.** (1995). Protein C deficiency: a database of mutations, 1995 update. *Thromb Haemost*, 74(05), 876-889.
- Rerolle, J.Ph., Vigneau, C., & Rondeau, E.** (2001). L'inhibiteur de type 1 des activateurs du plasminogène: physiologie et rôle en physiopathologie rénale. *Néphrologie*, 22(1), 5-13
- Rey, E., Kahn, S.R., & Shrier, I.** (2003). Thrombophilic disorders and fetal loss: a meta-analysis. *Lancet* ;361 (9361):901-8.
- Rigat, B., Hubert, C., & Soubrier, F.** (1990). An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest* ;86(04):1343–1346.
- Rigat, B., Hubert, C., & Soubrier F.** (1992). PCR detection of the insertion/deletion polymorphism of the human angiotensin converting enzyme gene (DCP1) (dipeptidyl carboxypeptidase 1). *Nucleic Acids Res* ; 20: 1433-
- Sadler, T., Langman, J.** (2018). *Embryologie médicale*. 9e édition, Paris. p54.
- Sadou ,I.T .(2010 ).** Les avortements dans le service de gynécologie obstétrique de l'hôpital de Gao a propos de 153 cas. (Thèse de doctorat, la faculté de médecine de Pharmacie et d'onto-stomatologie, Mali).
- Saffroy, R., Lemoine, A., & Debuire, B.** (2005). MTHFR (5, 10-Methylenetetrahydrofolate reductase). *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology*.

- Saint-Dizier, D.M., Chastant-Maillard, S.** (2014). La reproduction animale et humaine, France. p376.
- Saravelos, S. H., Cocksedge, K. A., & Li, T. C.** (2008). Prevalence and diagnosis of congenital uterine anomalies in women with reproductive failure: a critical appraisal. *Hum reprod update*, 14(5), 415-429.
- Sarig G, Younis ,J.S .,& Hoffman R.** (2002). Thrombophilia is common in women with idiopathic pregnancy loss and is associated with late pregnancy wastage. *Fertil Steril* 2002;77 (2):342-7.
- Sawdcy, M., Loskutoff,D. J.** (1991). Regulation of type one plasminogen activator inhibitor gent expression in cultured endothelial cells and the vessel wall. In: *Antherosclerosis: Cellular and Molecular Interactions in the Artery Wall*, edited by Fedoroff S. Plenum Publishing Corp. New York.187-208.
- Sayed-Tabatabaei, F. A., Oostra, B. A., & Witteman, J. C. M.** (2006). ACE polymorphisms. *Circ res*, 98(9), 1123-1133.
- Schrader, J., Kulschewski, A., &Dendorfer, A.** (2007). Inhibition of the renin-angiotensin system and the prevention of stroke. *Am J Cardiovasc Drugs*, 7(1), 25-37.
- Schunke, M., Schulte, E., & Wesker, K.** (2005). Atlas d'anatomie : Anatomie générale et système locomoteur, Paris. p4.
- Sennaoui, K., Ouda,F., & Guermich, A.** (2015). Fausses-Couches spontanées. (Thèse de doctorat, la faculté de médecine Dr .B BENZERDJEB, Tlemcen, Algérie).
- Sibai, BM.** (1996).Treatment of hypertension in pregnant women. *N Engl J Med*; 335:257-65.
- Simon, C., Rubio, C., & Pellicer, A.** (1998). Increased chromosome abnormalities in human preimplantation embryos after in-vitro fertilization in patients with recurrent miscarriage. *Reprod Fertil Dev*;10(1):87-92
- Singh-cundy, A., Shin, G.** (2017). Découvrir la biologie. 6ème édition, Paris. p751.
- Siu, S. C., Colman, J. M., & Sermer, M.** (2002). Adverse neonatal and cardiac outcomes are more common in pregnant women with cardiac disease. *Circulation*, 105(18), 2179-2184.
- Soubrier, F., Alhenc-Gelas, F., & Corvol, P.** (1988). Two putative active centers in human angiotensin I-converting enzyme revealed by molecular cloning. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 85(24), 9386-9390.
- Stefano, D., Rosanna, A & Maria Luisa, T.** (2004). Molecules in focus: Coagulation factor V. (2004). *Int J Biochem Cell Biol.* 36(8):1393-9.

- Steinberg, B.J., Hilton, IV & Iida, H.** (2013). Oral health and dental care during pregnancy. *Dent Clin North Am*, 57(2), 195-210.
- Stephenson, MD., Awartani, KA., & Robinson, W.P.** (2002). Cytogenetic analysis of miscarriages from couples with recurrent miscarriage: a case-control study. *Hum Reprod*. 17(2):446-51
- Su, G., Dou H., Zhao, L., & Peng, B.** (2015). The angiotensin-converting enzyme (ACE) I/D polymorphism in Parkinson's disease. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 16(2):428-33.
- Suehiro, T., Morita, T., & Hashimoto, K.** (2004). Increased amount of the angiotensin-converting enzyme (ACE) mRNA originating from the ACE allele with deletion. *Hum Genet*. 115(2):91-96.
- Suleiman, L., Négrier, C., & Boukerche, H.** (2013). Protein S: A multifunctional anticoagulant vitamin K-dependent protein at the crossroads of coagulation, inflammation, angiogenesis, and cancer. *Crit Rev Oncol Hematol.* 88(3):637-54.
- Sum, T., Lin, S.H., & Kuo, P.L.** (2013). Genetic association studies of ACE and PAI-1 genes in women with recurrent pregnancy loss: a systematic review and meta-analysis. *Thromb Haemost* ; 109(01):8–15.
- Takano, K., Miller, JR.** (1972) ABO incompatibility as a cause of spontaneous abortion: evidence from abortuses. *J Med Genet*; 9(2):144-50.
- Tarrade, A., Chavatte-Palmer, P., & Evian-Brion, D.** (2014). *Le placenta. La reproduction animale et humaine*, Paris. pp367-407.
- Temple, R., Aldridge, V., & Stanley, K.** (2002). Association between outcome of pregnancy and glycaemic control in early pregnancy in type 1 diabetes: population based study. *BMJ*; 325: 1275–6.
- Thai, N., Lefebvre, G., & Darbois, Y.** (1992). Grossesse et obésité: a propos d'une étude cas-témoins de 140 cas. *Journal de gynécologie obstétrique et biologie de la reproduction* ,21(5), 563-567.
- Tiret, L., Rigat, B., & Breda, C.** (1992). Evidence, from combined segregation and linkage analysis, that a variant of the angiotensin I-converting enzyme (ACE) gene controls plasma ACE levels. *Am J Hum Genet*; 51: 197-205
- Tortora, G. J., Derrickson, B.** (2007). *Principes d'anatomie et de physiologie* .4eme édition, paris .pp.1172-1173.
- Tortora, G.J., Grabowski, S. R.** (2001). *Principes d'anatomie et de physiologie*. De Boeck Supérieur



- Toure, I. A., Brah, F., & Prual, A.** (1997). Hypertension artérielle (HTA) et grossesse au Niger: Etudes Cas/Témoins à propos de 70 cas. *Médecine d'Afrique noire*, 44(4), 205-208.
- Tüttelmann, F., Ivanov, P., & Bogdanova, N.** (2013). Further insights into the role of the annexin A5 M2 haplotype as recurrent pregnancy loss factor, assessing timing of miscarriage and partner risk. *Fertil steril*, 100(5), 1321-1325.
- Ueland, P.M., Rozen, R .** (2005). MTHFR polymorphisms and disease. Georgetown: Landes Bioscience/Eurekah.com 210 .
- Ulander, V. M., Stefanovic, V., & Kaaja, R.** (2007). Plasma levels of annexins IV and V in relation to antiphospholipid antibody status in women with a history of recurrent miscarriage. *Thrombosis research*, 120(6), 865-870
- van den Boogaard, E., Vissenberg, R., & Bisschop, P. H.** (2011). Significance of (sub) clinical thyroid dysfunction and thyroid autoimmunity before conception and in early pregnancy: a systematic review. *Hum reprod update*, 17(5), 605-619.
- Véronique, L., Bruno, C.** (2007). Fausse couche et morts fœtales, paris. p4
- Vettrisilvi, V., Vijayalakshmi, K., & Venkatachalam, P.** (2008). ACE and MTHFR gene polymorphisms in unexplained recurrent pregnancy loss. *J Obstet Gynaecol Res.* Jun;34(3):301-6.
- Wang, Z., Wang, P., & Wang, B.** (2013). significant association between angiotensin-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism and risk of recurrent miscarriage: a systematic review and meta-analysis. *Metabolism.* 62(9):1227-38.
- William, Larsen., Schoenwolf, P.,& Brauer, R.**(2017). Embryologie humaine de Larsen .4e Édition, Paris. p560.
- World Health Organization.** (2004). International statistical classification of diseases and related health problems (Vol. 1). Second edition .World Health Organization.
- Wright , J. W., Harding, J. W.** (2008). The angiotensin AT4 receptor subtype as a target for the treatment of memory dysfunction associated with Alzheimer's disease. *Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System*, 9(4), 226-237.
- Wypasek, E., Undas, A.** (2013). Protein C and protein S deficiency-practical diagnostic issues. *Adv Clin Exp Med.* 22(4):459-67.
- Yalcintepe, S., Ozdemir, O., & Silan, F.** (2015).Multiple Inherited Thrombophilic Gene Polymorphisms in Spontaneous Abortions in Turkish Population. *Int J Mol Cell Med.* Spring; 4(2):120-7.
- Yang, J., Hartmann, K., &Olshan, A.** (2004). Vaginal bleeding during pregnancy and preterm birth. *American Journal of Epidemiology* ; 160 : 118-25.



**Yang, C., Fangfang, W., & Jie, L.** (2012). Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion (I/D) polymorphisms and recurrent pregnancy loss: ameta-analysis. *J Assist Reprod Genet* ;29 (11):1167–1173.

**Yenicesu, GI., Cetin, M&., Kocak, N.** (2010). A prospective case-control study analyzes 12 thrombophilic gene mutations in Turkish couples with recurrent pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol.* 63(2):126-36.

**Zhang, Y.F., Wang, H., & Kwok, TC.** (2017). The relationship between angiotensin-converting enzyme (ACE) insertion (I) / deletion (D) polymorphism, serum ACE activity and bone mineral density (BMD) in older Chinese. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 18(1):1470320316688345.

**Zhou, LM., Yang, WW., & Deng, CQ.** (1998). Relation of hemoglobin measured at different times in pregnancy to preterm birth and low birth weight in Shangai, China. *Am J Epidemiol*, 148, 998-1006. 189-312.

# Annexes

## Annexe 01 : Fiche de renseignement

- Nom et prénom:
- Adresse :
- Tel :
- Age :
- Activité physique
- Le niveau socioprofessionnel:
- Caractère des cycles : Réguliers  Irréguliers  Durée :
- Date du mariage :
- Poids habituel juste avant la grossesse (Kg) : Taille (m) :
- Age de la première grossesse :
- Nombre de grossesse y compris la présente :
- Nombre de fausses couches :  Date de la dernière :  Terme :
- Cause de fausse couche :
- Nombre d'enfants vivants :
- Nombre d'enfants qui sont : Mort  Mort-nés  Prématurés
- Enfant ayant une anomalie chromosomique : trisomie  ou autre
- Nombre d'enfants mort avant d'avoir un an :
- Mort liée au poids insuffisant : Oui  Non
- Grossesse au cours d'un allaitement : Oui  Non
- Contraception antérieure : Oui  Non
- Méthode utilisée :
- Régime particulier : Oui  Non
- Conseillé par : Médecin diététicien magazine ou publicité
- Conseils d'entourage : autre (s) :

### Antécédents avant la présente de la grossesse :

- Age gestationnel actuel (mois ou semaines) :
- Poids actuel (Kg) :

### Paramètres biologiques :

- Glycémie (g /L) :
- Globule blanc (ul) :
- Globule rouge (UI) :
- Hémoglobuline (g/dl) :
- Hématocrite (%) :
- Les plaquettes (UI) :
- lymphocyte (%) :
- urée (g/l) :
- TP (%) :
- ABO :


### Les pathologies liées à la grossesse

- Hypertension artérielle : oui  Non
- Anémie : oui  Non
- Diabète : oui  Non
- Maladie cardio-vasculaire : oui  Non
- Pathologie inflammatoire : oui  Non
- Autres : oui  Non

### Grossesse actuelle :

- Poids (kg) :
  - Taille (cm) :
  - Êtes-vous préparée psychologiquement pour cette grossesse : oui  Non
  - Envisagez-vous d'allaiter cet enfant : oui  Non
  - Avez-vous allaité vos enfants précédents : oui  combien de temps  Non
  - Présentez-vous des troubles liés à votre grossesse ? Oui  Non
- Si oui de quel type ?
- Maux de grossesse : nausée  vomissement  mal au dos  constipation
  - insomnie  autres

### Enquête le jour de l'accouchement :

- Age gestationnel :
- Modalités d'accouchement : accouchement normal  accouchement compliqué cause(s) :
- Durant les premiers jours suivant l'accouchement :

### Nouveau-né

- Date de naissance : Sexe masculin  féminin
- Poids de naissance (Kg) : Taille à la naissance (cm)  , Périmètre crânien de naissance (cm) :
- Température Malformations : Convulsions
- Complication (s) éventuelle(s) :

## **Annexe 02 : Technique d'extraction d'ADN**

- Ajouter dans un tube Falcon de 50 ml le sang total, puis compléter jusqu'au volume de 50 ml avec du TE (TRIS + EDTA) 20:5.
- Laisser le mélange 10 min dans le bain de glace.
- Centrifuger pendant 10 min à 3900 g (3900 rpm).
- Aspirer le surnageant avec la trompe à vide afin de garder le culot leucocytaire précipité au fond de tube.
- Rajouter le TE 20:5 au culot jusqu'à 25-30 ml, agiter pour le remettre en suspension et laisser 10 min dans la glace.
- Centrifuger dans les mêmes conditions précédentes.
- Déverser le surnageant pour obtenir un culot de leucocytes.
- Dilacérer le culot de leucocytes soigneusement afin de les prendre complètement et les mettre dans un tube Falcon conique de 15 ml.
- Ajouter 3 ml de tampon de lyse (NaCl 400mM, EDTA 2mM, Tris 10mM, PH 8,2).
- Ajouter 200 µl de SDS à 10% (détruire les membranes et libérer l'ADN).
- Ajouter 100 µl de protéinase K à 10 mg/ml (purification du mélange).
- Dans l'étuve, agiter les tubes dans une roue rotative à 37°C pendant une nuit.
- Le lendemain, refroidir dans le bain de glace.
- Ajouter 1 ml de NaCl 4 M et agiter rigoureusement à la main.
- Remettre les tubes 5 min dans la glace (précipitation des protéines).
- Centrifuger pendant 15 min à 2500 rpm.
- Transvaser le surnageant dans un tube Falcon de 15 ml, et puis ajouter 2 fois son volume d'éthanol absolu (environ 8ml) préalablement refroidi et agiter en tournant le tube plusieurs fois : la pelote d'ADN s'est formée visible à l'œil nu (laisser le tube éventuellement 30 min à -20°C si la pelote d'ADN ne se forme pas).
- Récupérer la pelote d'ADN par une pipette pasteur et rincer 2 fois dans l'éthanol à 70% dans un tube eppendorf stérile.

### **2. Solubilisation de l'ADN**

L'ADN est réhydraté en ajoutant entre 300 et 1000 µl de TE 10 selon la grosseur de la pelote et la concentration souhaitée.

Laisser les tubes sur un agitateur rotateur à 35 °C, puis à température ambiante jusqu'à dissolution complète (1 à 2 jours).

### **Annexe 03 : préparation du TBE 1X**

On prépare le TBE 10X : Tris 108g + acide Borique 55g + EDTA 9.3g + H<sub>2</sub>O distillée 1L, puis on fait une dilution pour obtenir un TBE 1X, on prend 100 ml TBE et on complète le volume avec de l'H<sub>2</sub>O distillée jusqu'à 1000 ml.

## Résumé

La complication la plus courante de la grossesse est la perte de grossesse récurrente idiopathique. En Algérie, la grossesse arrêtée représente un réel problème dans le service de gynécologie obstétrique. Certains facteurs favorisent la survenue d'une fausse couche spontanée tels que : l'âge maternel  $> 36$  ans et les maladies chroniques. Plusieurs facteurs de risque génétiques peuvent être à l'origine de la survenue d'une GA. L'ECA est une enzyme clé dans le système rénine angiotensine. Compte tenu de l'important rôle de l'ECA, il semble être une cause de fibrinolyse qui pourrait favoriser le développement d'une GA.

**L'objectif** de notre étude était de préciser les caractéristiques phénotypiques, cliniques et obstétriques et d'examiner d'éventuelle association entre le polymorphisme D/I du gène de l'ECA et le risque de la GA dans un échantillon de femmes algériennes.

**Patientes et méthodes :** l'étude statistique a concerné 89 femmes qui ont été hospitalisées au niveau du service de gynécologie du CHUC de Constantine. L'étude moléculaire a été menée sur 14 femmes enceintes, ayant une grossesse arrêtée, recrutées au niveau du même service, et colligées sur une période de deux mois. L'identification de l'association entre le polymorphisme D/I du gène ECA et la survenue de la grossesse arrêtée a été réalisée par la technique de PCR. La comparaison des fréquences alléliques et génotypiques entre les deux groupes a été établie par le calcul de l'odds et de la *p-value*.

**Résultats :** L'âge moyen global de nos patientes est de 32 ans avec un pic de fréquence entre 30 à 40 ans et des extrêmes allant de 22 ans à 42 ans. La majorité des femmes était des nullipares et paucipares. Nous avons observé que l'âge gestationnel était entre 10SA -20SA avec une fréquence de 57%. Dans notre étude, 15% des patientes avaient des antécédents médicaux personnels. L'HTA est considéré comme le premier et le plus fréquent. Ce dernier augmente avec l'âge maternel, mais les autres facteurs (le système ABO, les antécédents familiaux) n'ont aucune association significative. De même, aucune association positive n'a été observée entre le polymorphisme de l'ECA et la GA dans notre échantillon d'étude.

**Conclusion :** selon l'analyse statistique des résultats préliminaires du génotypage moléculaire, le polymorphisme D/I de l'ECA ne peut être considéré comme un facteur de risque pour la grossesse arrêtée. Cependant la taille de notre échantillon ne permet pas d'infirmer ou de confirmer avec une certitude la présence ou l'absence de cette association.

**Mots clés :** grossesse arrêtée, fausse couche spontanée, âge, ECA, âge gestationnel, polymorphisme D/I, PCR.

## Abstract

The most common complication of pregnancy is idiopathic recurrent pregnancy loss (RPL). In Algeria, the pregnancy loss represents a real problem in the obstetrics and gynecology department. Some factors favor the occurrence of spontaneous miscarriage such as: maternal age > 36 years and chronic diseases. Several genetic risk factors may be responsible for the onset of GA. ACE is a key enzyme in the renin angiotensin system. Given the important role of ACE, it appears to be a cause of fibrinolysis that could promote the development of GA.

The objective of our study was to specify the phenotypic, clinical and obstetric characteristics and to examine the possible association between the D / I polymorphism of the ACE gene and the risk of GA in a sample of Algerian women.

**Patients and methods:** the statistical study concerned 89 women who were hospitalized at the gynecology department of the CHUC of Constantine. The molecular study was conducted on 14 pregnant women, having an arrested pregnancy, recruited at the same service, and collected over a period of two months. The identification of the association between the D / I polymorphism of the ECA gene and the occurrence of the arrested pregnancy was carried out by the PCR technique. The comparison of the allelic and genotypic frequencies between the two groups was established by calculating the odds and the p-value.

**Results:** The overall mean age of our patients is 32 years with a peak frequency between 30 to 40 years and extremes ranging from 22 years to 42 years. The majority of women were nulliparous and pauciparous. We observed that the gestational age was between 10SA-20SA with a frequency of 57%. In our study, 15% of patients had a personal medical history. HTA is considered the first and most common. The latter increases with maternal age, but the other factors (ABO system, family history) have no significant association. Similarly, no positive associations were observed between ACE polymorphism and GA in our study sample.

**Conclusion:** According to the statistical analysis of the preliminary results of molecular genotyping, the D / I polymorphism of ACE cannot be considered as a risk factor for arrested pregnancy. However, the size of our sample does not allow confirming or confirming with certainty the presence or absence of this association.

**Key words:** arrested pregnancy, spontaneous miscarriage, age, ACE, gestational age, D / I polymorphism, PCR.

## الملخص

المضاعفات الأكثر شيوعاً للحمل هو فقدان الحمل المتكرر مجهول السبب. في الجزائر ، يمثل توقف الحمل مشكلة حقيقية في قسم التوليد وأمراض النساء. بعض العوامل تسمح بحدوث إجهاض تلقائي مثل: عمر الأم < 36 عامًا والأمراض المزمنة. قد تكون عدة عوامل خطيرة وراثية مسؤولة عن ظهور فقدان الحمل المتكرر. ECA هو إنزيم رئيسي في نظام رينين أنجيوتنسين. بالنظر إلى الدور المهم الذي يؤديه ECA ، يبدو أن سبب تحلل الفيبرين يمكن أن يعزز تطور فقدان الحمل المتكرر.

**الهدف** من دراستنا هو تحديد الخصائص المظهرية والسريية والتوليدية ودراسة العلاقة المحتملة بين تعدد الأشكال D / I لمورثة ECA وخطر فقدان الحمل المتكرر في عينة من النساء الجزائريات.

**المرضى والطرق:** شملت الدراسة الإحصائية 89 امرأة تم نقلهن إلى المستشفى في قسم أمراض النساء في المستشفى الجامعي في قسنطينة. وقد أجريت الدراسة الجزيئية على 14 امرأة تعاني من الحمل المتوقف ، المتواجدين في نفس المصلحة، وجمعها على مدى فترة شهرين. تم تحديد العلاقة بين تعدد الأشكال D / I في مورثة ECA وحدوث الحمل المتوقف بواسطة تقنية PCR. تم تأسيس مقارنة الترددات الأليلية والوراثية بين المجموعتين من خلال حساب الاحتمالات والقيمة p.

**النتائج:** يبلغ متوسط العمر الإجمالي لمرضانا 32 عامًا ، حيث يبلغ تردد الذروة ما بين 30 إلى 40 عامًا وتتراوح أعمارهم بين 22 و 42 عامًا. وكانت غالبية النساء من اللاتي لم تسبق لهن الولادة و اللاتي سبق لهن ذلك. لاحظنا أن عمر الحمل كان بين الاسبوع العاشر والاسبوع العشرين من توقف الطمث مع تردد 57٪. في دراستنا ، كان 15٪ من المرضى لديهم تاريخ طبي شخصي. ارتفاع ضغط الدم يعتبر الأول والأكثر شيوعاً. يزداد هذا الأخير مع تقدم عمر الأم، لكن العوامل الأخرى (نظام ABO، تاريخ العائلة) ليس لها ارتباط كبير. وبالمثل، لم يلاحظ أي ارتباط إيجابي بين تعدد الأشكال من ECA و فقدان الحمل المتكرر في عينة الدراسة لدينا.

**الاستنتاج:** وفقاً للتحليل الإحصائي للنتائج الأولية للتكوين الوراثي الجزيئي ، لا يمكن اعتبار تعدد الأشكال D / I من ECA كعامل خطر للحمل المتوقف. ومع ذلك ، فإن حجم العينة لا يسمح بإبطال أو تأكيد وجود أو عدم وجود هذا الارتباط.

**الكلمات المفتاحية:** امرأة حامل ، حمل متوقف ، إجهاض تلقائي ، عمر الحمل ، ECA، تعدد الأشكال D / I ، PCR.



Année universitaire : 2018-2019

Présenté par : BOUGHABA Laila TAIBA Yousra

**Association du polymorphisme d'insertion/délétion du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine avec la perte de grossesse récurrente**

**Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Génétique**

La complication la plus courante de la grossesse est la perte de grossesse récurrente idiopathique. En Algérie, la grossesse arrêtée représente un réel problème dans le service de gynécologie obstétrique. Certains facteurs favorisent la survenue d'une fausse couche spontanée tels que : l'âge maternel  $> 36$  ans et les maladies chroniques. Plusieurs facteurs de risque génétiques peuvent être à l'origine de la survenue d'une GA. L'ECA est une enzyme clé dans le système rénine angiotensine. Compte tenu de l'important rôle de l'ECA, il semble être une cause de fibrinolyse qui pourrait favoriser le développement d'une GA.

**L'objectif** de notre étude était de préciser les caractéristiques phénotypiques, cliniques et obstétriques et d'examiner d'éventuelle association entre le polymorphisme D/I du gène de l'ECA et le risque de la GA dans un échantillon de femmes algériennes.

**Patientes et méthodes :** l'étude statistique a concerné 89 femmes qui ont été hospitalisées au niveau du service de gynécologie du CHUC de Constantine. L'étude moléculaire a été menée sur 14 femmes enceintes, ayant une grossesse arrêtée, recrutées au niveau du même service, et colligées sur une période de deux mois. L'identification de l'association entre le polymorphisme D/I du gène ECA et la survenue de la grossesse arrêtée a été réalisée par la technique de PCR. La comparaison des fréquences alléliques et génotypiques entre les deux groupes a été établie par le calcul de l'odds et de la *p-value*.

**Résultats :** L'âge moyen global de nos patientes est de 32 ans avec un pic de fréquence entre 30 à 40 ans et des extrêmes allant de 22 ans à 42 ans. La majorité des femmes était des nullipares et paucipares. Nous avons observé que l'âge gestationnel était entre 10SA -20SA avec une fréquence de 57%. Dans notre étude, 15% des patientes avaient des antécédents médicaux personnels. L'HTA est considéré comme le premier et le plus fréquent. Ce dernier augmente avec l'âge maternel, mais les autres facteurs (le système ABO, les antécédents familiaux) n'ont aucune association significative. De même, aucune association positive n'a été observée entre le polymorphisme de l'ECA et la GA dans notre échantillon d'étude.

**Conclusion :** selon l'analyse statistique des résultats préliminaires du génotypage moléculaire, le polymorphisme D/I de l'ECA ne peut être considéré comme un facteur de risque pour la grossesse arrêtée. Cependant la taille de notre échantillon ne permet pas d'infirmer ou de confirmer avec une certitude la présence ou l'absence de cette association.

**Mots clés :** grossesse arrêtée, fausse couche spontanée, âge, ECA, âge gestationnel, polymorphisme D/I, PCR.

**Laboratoires de recherche :**

Laboratoire de Biologie et Génétique Moléculaire ChUC, Université Salah Boubnider , Constantine 3.  
Laboratoire de Biologie Moléculaire, Université Frères Mentouri, Constantine 1.

**Président du jury :** CHAOUI Naoual (Professeur – UPMC1).

**Encadreur :** CHELLAT Djalila (Maître de conférences A - UPMC1).

**Examineur :** REZGOUN Med Larbi (Maître de conférences A - UPMC1).