

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث 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 الإخوة 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*

N° d'ordre :
N° de série :

Intitulé :

**Implication du polymorphisme I/D du gène *ECA* chez
des couples infertiles candidats pour une insémination
artificielle (IAC)**

Présenté et soutenu par : GUENDOUZI Afnane
HAMI OUDA Imene

Le 10/07/2019

Jury d'évaluation :

Président : Pr SATTI Dalila (Professeur - Université des Frères Mentouri, Constantine 1).

Encadreur : Dr DAOUI Zineb (MCB - Université Mostefa Ben Boulaïd, Batna 2).

Examineur : Dr CHELLAT Djalila (MCA - Université des Frères Mentouri, Constantine 1).

**Année universitaire
2018 - 2019**

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS ET DÉDICACES

LISTE DES ABRÉVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

Introduction 1

Etude bibliographique

I. Anatomie et physiologie de la reproduction

1. Appareil génital masculin	3
2. Appareil génital féminin	3
3. Gamétogenèse	4
3.1.Spermatogenèse	4
3.1.1. Spermatozoïde	5
3.1.2. Régulation de la spermatogenèse	7
3.2.Ovogenèse	8

II. Infertilité du couple

1. Epidémiologie	10
2. Etiologies de l'infertilité du couple	11
2.1.Chez la femme	11
2.2.Chez l'homme	12
2.3.Facteurs de risque d'infécondité liés au couple	14
3. Etiologies de l'infertilité féminine	14
3.1.Anomalie du vagin	14
3.2.Anomalie du cervix	14
3.3.Anomalie de l'utérus	14
3.3.1. Fibrome	14
3.3.2. Endométrite	14
3.3.3. Syndrome d'Asherman	15
3.3.4. Malformations utérines	15
3.4.Anomalie des trompes de Fallope	15

3.5. Anomalie de l'ovaire	15
3.5.1. Insuffisance ovarienne prématurée	15
3.5.2. Hypogonadisme Hypogonadotrophique	15
3.5.3. Syndrome d'ovaire poly kystique (SOPK)	16
3.5.4. Dysfonctionnement pituitaire	16
3.6. Endométriose	16
3.7. Avortements spontanés à répétition (ASR)	16
4. Classification de l'infertilité masculine selon l'étiologie	17
4.1. Classification spermologique	17
4.2. Classification selon le type d'infertilité.....	18
4.3. Classification physiopathologique	18
5. Infertilité idiopathique	19

III. Génétique de l'infertilité

1. Système rénine-angiotensine	20
2. Enzyme de conversion de l'angiotensine	21
2.1. Structure de l'ECA	21
2.2. Fonction de l'ECA	21
2.3. Gène de l'ECA.....	21
2.4. Polymorphisme génétique de l'ECA	22
2.5. Expression des ECA dans les ovaires et les testicules.....	23
2.5.1. ECA de l'ovaire	23
2.5.2. ECA de testicule	24
2.6. Lien entre le polymorphisme de l'ECA et de l'infertilité.....	25
3. Autres gènes candidats associés à l'infertilité	26

IV. Diagnostic : les examens de fertilité

1. Bilan clinique de l'infertilité	27
1.1. Interrogatoire médical.....	27
1.2. Examen clinique	27
1.2.1. Chez la femme	27
1.2.2. Chez l'homme.....	27
1.3. Bilan d'infertilité	28
1.3.1. Chez la femme	28
1.3.2. Chez l'homme	29

1.3.3. Chez le couple.....	30
----------------------------	----

Méthodologie

I Patients est témoins

1. Recrutement des patients.....	31
1.1.Critères d'inclusion	31
1.2.Critères d'exclusion.....	31
2. Recrutement des témoins	31
3. Collecte des données.....	31

II Méthodes expérimentales

1. Examen biologique	32
1.1.spermogramme	32
1.1.1. Examen macroscopique	32
1.1.2. Examen microscopique.....	33
1.2.Spermocyto-culture	34
1.3.Insémination artificiel intra-utérine avec sperme de conjoint (IAC)	36
1.3.1. Stimulation ovarienne	36
1.3.2. Préparation du sperme en vue de l'insémination.....	36
1.3.3. Insémination proprement dit.....	38
2. Etude moléculaire	39
2.1.Extraction de l'ADN.....	39
2.1.1. Prélèvement sanguin	39
2.1.2. Principe de l'extraction de l'ADN.....	39
2.2.Génotypage de l'ECA	39
2.2.1. Amplification par la PCR	39
2.2.2. Contrôle des produits de la PCR.....	41
3. Etude statistique	42

Résultats et discussion

I Caractéristique épidémiologique des couples

4. Age	43
5. Indice de masse corporelle (IMC)	44
6. Groupes sanguins	45

7. Origine géographique	46
8. Type d'infertilité	48

II Données cliniques et biologiques chez l'homme

1. Statut tabagique	49
2. Activité professionnelle	50
3. Antécédents urogénitaux	51
4. Antécédents familiaux	52
5. Antécédents chirurgicaux	52
6. Résultats du spermogramme	53
7. Résultats du spermoculture	58

III Données cliniques et biologiques chez la femme

1. Age de puberté	59
2. Régularité du cycle menstruel et la durée des menstruations.....	59
3. Hirsutisme et acné	61
4. Antécédents familiaux	61
5. Antécédents médicaux	62
6. Antécédents chirurgicaux	63
7. Antécédents obstétricaux	63
8. Profil hormonal	64
9. Résultats de l'IAC	67

IV Résultats de l'analyse moléculaire du polymorphisme I/D gène *ECA*

1. Fréquences génotypiques et alléliques	68
2. Corrélation du polymorphisme I/D du gène <i>ECA</i> et certains facteurs de risque de l'infertilité	70
3. Corrélation du le polymorphisme I/D de l' <i>ECA</i> et les antécédents médicaux et obstétricaux	72
4. Corrélation du polymorphisme I/D de l' <i>ECA</i> et les anomalies spermatiques.....	74

Conclusion et perspectives	76
---	----

Références bibliographiques	77
--	----

Annexes

Résumés

Remerciements
Et
Dédicaces

Remerciements

On remercie avant tout le Bon Dieu qui nous a donné le courage et la volonté de réaliser ce travail.

*On tient tout particulièrement à remercier **Dr DAOUI ZINEB**, notre encadreur, qui n'a pas ménagé le moindre effort pour nous assister dans le choix du thème et la réalisation du présent mémoire, l'expression de notre profonde gratitude quant à sa patience, le temps et l'attention qu'elle nous a consacré.*

On tient aussi à remercier tous les membres de jury qui ont accepté d'évaluer et de juger le présent travail.

*Un grand merci au personnel du Service de gynécologie obstétrique et de procréation médicale assistée PMA d'ESH mère et enfant de SIDI MEBROUK Et en particulier **Dr BEN DOUKHAN K**, **Dr BAGHOUL N** et la sage femme **DJAOU I** qui nous ont ouvert les portes des structures dont ils avaient la responsabilité et qui ont tous mis à notre disposition pour nous permettre de travailler dans les meilleures conditions.*

*On tient à remercier le personnel du laboratoire de biologie et génétique moléculaire du CHU, et en particulier **DADCI Y** également le personnel du laboratoire de biologie et génétique moléculaire d'Université des Frères Mentouri, Constantine 1, et très particulier **Dr CHELLAT** et la doctorante **LAOUAR R**.*

On remercie aussi chaleureusement tous les enseignants du Master 2 « Génétique moléculaire » Nous vous prions d'accepter, chers maitres, l'expression de notre profonde gratitude.

Toute notre gratitude pour ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Les docteurs vétérinaires.



Dédicace

Je dédie ce modeste mémoire :

A l'homme de ma vie ... mon père

« Les morts ne meurent pas quand on les enterre, ils meurent quand on les oublie »

Je dédie ce modeste travail à mon père, décédé le jeudi 13 février 2015. Je n'arrive toujours pas à m'imaginer qu'il est parti dans le royaume des Cieux et que je me retrouve sans père. Il me manque profondément, mais la mort fait partie de la vie. L'unique chose que je peux faire pour lui est de prier Dieu pour lui accorder Son Infinie Miséricorde et l'accueillir dans Son Eternel Paradis. Que Dieu le bénisse. Allah yar7mou, iwassa3 zalih

À ma **mère**, merci pour tous ce que tu as fait et ce que tu fais encore pour moi.

À ma chère sœur **SOUMIA**, merci d'être toujours à mes cotés, de m'avoir aimé et de votre intérêt pour tout ce qui me concerne malgré ta responsabilités familiales. Priez Dieu de te garder pour ton mari **CHOUAKI**, que je considère comme mon grand frère, et tes enfants qui sont l'amour de ma vie **SADJED** et **DARINE**.

À mes très chères sœurs et mon cher frère **OUSSAMA, ZINEB** et **LOUDJAINE** pour votre aide et votre soutient moral. Je vous souhaite beaucoup de succès dans votre vie et surtout beaucoup de joie et de bonheur et je demande à Dieu de vous protéger ainsi que vos enfants **NADINE, LOURINE** et **OMAR** .

À ma tante **AMINA** et sa fille **SADJA** .

À mon oncle **HAMADOU**.

À Mon binôme **MOUNA**, pour la sœur agréable qu'elle était et pour son esprit d'équipe.

Je remercie tous ceux qui m'aiment et tous ceux que j'aime.

Afnane



Dédicace

J'ai l'honneur de dédier cet humble travail . . . 

À la mémoire de **mon père**. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour lui.

Puisse Dieu l'accueillir dans son infinie Miséricorde.

À celui qui a toujours garni mes chemins avec force et lumière ...mon très cher grand père **Papa Kaddour** ... l'épaule solide, l'œil attentif compréhensif et la personne la plus digne de mon estime et de mon respect.

À la meilleure de toutes les mères **Nadjet**.

Qui m'a soutenu durant toute ma vie, qui m'a aidé durant mes années d'études, qui m'a appris à aimer le travail et le bon comportement, pour son amour infini et sa bienveillance jour et nuit. Je souhaite prouver mon grand remerciement qui ne sera jamais suffisant à elle que j'espère la rendre fière par ce travail.

À la plus belle perle du monde ... ma chère grande mère maternelle **Mama Fatima** pour sa patience, son soutien, son amour et son encouragement.

À l'adorable tante **Chafika**, son marie Hassane et ses enfants Norhene, Halla et Imad.

À ma belle mère **Lamia** et mon beau-père **Salim**, qui méritent plus que des mots qui puissent se dire ou s'écrire, ils ont fait de moi leur fille, merci et encore merci.

À ma chère **Oula**, pour sa générosité, sa présence et son soutien puisse dieu le tout puissant le préserver et lui accorder santé, réussite et bonheur.

À mon fiancé **Mohamed El Houssein**, pour sa confiance, sa patience et sa tendresse. Il m'a toujours soutenu et réconforté, il est et il restera ma source d'encouragement. Il a supporté mes caprices pendant certaines périodes de ce parcours. Sincère gratitude.

À ma petite sœur adorable **Djihene** et mes frères **Adnen** et **Ali**.

Je leurs souhaitant tout le succès...tout le bonheur.

À mon oncle **Mourad**, sa femme **Houria** et ses enfants **Chiraz** et **Firas**.

À mon oncle **Chaabane**, sa femme **Rachida**, ses filles **Halima**, **Manel**, et **Bessma** et son fils **Bachir**.

À mon cousin **Borhene**, merci pour ton soutien et tes encouragements.

À mes adorable beaux-frères **Abderrahmane** et **Hayder** et ma belle-sœur **Aïcha**.

À toute la famille **HAMIOUDA** et **TOUATI** pour l'amour et le respect qu'ils m'ont toujours accordé. Que ce travail fasse votre fierté.

À mon binôme **Afnane** pour la sœur agréable qu'elle était et qu'elle restera pour moi, merci énormément pour son grand cœur et toutes ses qualités.

À tous mes Sœurette et amis du chemin : **Malak ; Houda ; Randa ; Azza ; Amani ; Chiraz ; Khadidja ; Hiba ; Imene ; Sana Nessrin ; Soumia ; Labiba ; Abir ; Lina ; Rim...**

Pour une sincérité si merveilleuse ... jamais oubliable ; en leur souhaitant tout le succès...tout le bonheur.

À ma promotrice : **Mme Daoui Zeineb**.

À toute personne qui m'a aidé à franchir un horizon dans ma vie.

Imene Hamiouda

LISTE DES ABREVIATIONS

AA	Acide Aminé
ABP	Androgen Binding Protein
ADAM3	A Disintegrin And Metallopeptidase Domain 3
ADN ase	Désoxyribonucléase
ADNc	Acide Désoxyribonucléique Complémentaire
AMH	Hormone Anti-Müllerienne
Ang I	Angiotensine I
Ang II	Angiotensine II
APM	Assistance Médicale à la Procréation
ASR	Avortements Spontanés à Répétition
ASRM	American Society for Reproductive Medicine
AT1R	Récepteur de l'Angiotensine II de Type 1
AT2R	Récepteur de l'Angiotensine II de Type 2
BET	Bromure d'Ethidium
CFTR	Cystic Fibrosis Trans-Membrane Conductance Regulator
CMV	Cytomégalovirus
DNC	Délai Nécessaire à Concevoir
dNTP	Désoxyribo-Nucléotide Tri-Phosphate
DRO	Dérivés Réactifs de l'Oxygène
ECA	Enzyme de Conversion d'Angiotensine
ECA1F	Enzyme de Conversion de l'Angiotensine 1 Forward
ECA1R	Enzyme de Conversion de l'Angiotensine 1 Reverse
EDTA	Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid
EGF	Epidermal Growth Factor
FIV	Fécondation <i>In Vitro</i>
FSH	Follicule Stimulating Hormone
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormone
hCG	Human Chorionic Gonadotropin
HSG	Hystérosalpingographie
I/D	Insertion/Délétion
IAC	Insémination Artificielle avec sperme de Conjoint
ICSI	Intra Cytoplasmic Sperm Injection

IGF1	Insulin-Like Growth Factor-1
IIU	Insémination Artificielle Intra Utérine
IL1	Inter-Leukine 1
IMC	Indice De Masse Corporel
Kb	Kilo base
KDa	Kilo Dalton
LH	Luteinizing Hormone
NCBI	National Center For Biotechnologie Information
OATS	Oligo-Asthéno-Tératospermie
OMI	Ovocyte Maturation Inhibiteur
OMS	Organisation Mondiale De La Santé
pb	Paires De Base
PCR	Polymerase Chain Reaction
POF	Premature Ovarien Failure
q	Bras Long D'un Chromosome
RI	Résistance A L'insuline
SDS	Sodium Dodécyle Sulfate
SOPK	Syndrome d'ovaire polykystique
SPZ	Spermatozoïde
SRA	Système Rénine Angiotensine
Taq	<i>Thermus Aquaticus</i>
TBE	Tris Borat EDTA
TE	Tris EDTA
TGFβ	Tumor Growth Factor B
TMS	Test De Migration-Survie
TSH	Thyroid Stimulating Hormon
UTR	Untranslated Regions
VIH	Virus De l'Immunodéficience Humain

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Schéma anatomique de l'appareil génital masculin adulte.....	3
Figure 2 : Anatomie de l'appareil génital féminin.....	4
Figure 3 : Schéma simplifié d'une portion transversale de tube séminifère montrant les différentes étapes de la spermatogenèse.....	5
Figure 4 : Représentation schématique de l'ultra-structure du spermatozoïde.....	6
Figure 5 : Régulation hormonale de la spermatogenèse.....	7
Figure 6 : Représentation schématique de l'ovogénèse.....	8
Figure 7 : Schéma du système local rénine-angiotensine(RAS).....	20
Figure 8 : Structure de l'enzyme de conversion de l'angiotensine.....	21
Figure 9 : Structure du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine.....	22
Figure 10 : Mécanisme d'interaction sperme-ovule.....	24
Figure 11 : Préparation du sperme par la méthode des gradients.....	38
Figure 12 : Répartition des patients selon la tranche d'âge.....	43
Figure 13 : Classification des patients selon l'indice de masse corporelle.....	44
Figure 14 : Répartition des patients selon les phénotypes des systèmes sanguins ABO et Rhésus.....	46
Figure 15 : Classification des couples selon l'origine urbaine ou rurale.....	47
Figure 16 : Répartition des couples selon le type d'infertilité.....	48
Figure 17 : Classification des hommes selon la consommation du tabac.....	49
Figure 18 : Répartition des hommes selon les antécédents urogénitaux.....	51
Figure 19 : Répartition des hommes selon les antécédents familiaux.....	52
Figure 20 : Répartition des hommes selon les antécédents chirurgicaux.....	53
Figure 21 : Répartition des sujets selon les cas normaux et pathologiques.....	54
Figure 22 : Répartition des patients selon les résultats du spermoculture.....	58
Figure 23 : Répartition des femmes selon l'âge de puberté.....	59
Figure 24 : Répartition des patientes selon la régularité du cycle menstruel.....	60
Figure 25 : Répartition des patientes selon la présence d'hirsutisme et d'acné.....	61
Figure 26 : Répartition des patientes selon les antécédents familiaux.....	62
Figure 27 : Répartition des patientes selon la présence ou l'absence d'antécédent d'avortement.....	64
Figure 28 : Répartition des patients en fonction de taux de succès de l'IAC.....	67

Figure 29 : Photographie du profil électrophorétique des fragments amplifiés par PCR du gène <i>ECA</i> sur gel d'agarose 2% et différents génotypes des patients.....	68
Figure 30 : Répartition des fréquences génotypiques dans notre population.....	69
Figure 31 : Répartition des fréquences phénotypiques dans notre population.....	69

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Estimation du taux de prévalence de l'infertilité primaire et secondaire chez les femmes âgées de 20-49ans (Mascarenhas <i>et al.</i> , 2012)	10
Tableau 2 : Définition des paramètres spermatiques normaux et anomalies associées (OMS, 2010).....	17
Tableau 3 : Amorces utilisées pour l'amplification du gène <i>ECA</i>	40
Tableau 4 : Quantités de chaque constituant du milieu réactionnel de la PCR.....	40
Tableau 5 : Tableau de contingence pour le calcul de l'odds ratio	42
Tableau 6 : Classification des couples selon les régions et villes d'Algérie.....	47
Tableau 7 : Classification des hommes selon l'activité professionnelle.....	50
Tableau 8 : Comparaison des différents paramètres spermatiques chez les cas pathologiques et normaux.....	55
Tableau 9 : Répartition des patients selon les anomalies spermatique	57
Tableau 10 : Répartition des patientes selon la durée des règles menstruelles	60
Tableau 11 : Répartition des patientes selon les antécédents médicaux	63
Tableau 12 : Répartition des femmes selon les antécédents chirurgicaux	63
Tableau 13 : Répartition des patientes en fonction de leur profil hormonal	65
Tableau 14 : Fréquences génotypiques et alléliques dans notre population.....	68
Tableau 15 : Résultats de l'analyse statistique du polymorphisme I/D du gène <i>ECA</i> dans la population patients et témoins.....	70
Tableau 16 : Corrélation entre le polymorphisme I/D de l' <i>ECA</i> et l'âge des patients.....	71
Tableau 17 : Corrélation entre le polymorphisme I/D de l' <i>ECA</i> et l'IMC des patients.....	71
Tableau 18 : Corrélation entre le polymorphisme I/D de l' <i>ECA</i> et le statut tabagique des patients	72
Tableau 19 : Corrélation entre le polymorphisme I/D de l' <i>ECA</i> et les antécédents médicaux et obstétricaux	73
Tableau 20 : Corrélation entre le polymorphisme I/D de l' <i>ECA</i> et les anomalies spermatiques	74

Introduction

Introduction

L'infertilité est définie comme l'incapacité à concevoir un enfant après une année de rapports sexuels non protégés (Schlosser *et al.*, 2007). Elle constitue de nos jours un réel problème de santé publique du fait de sa prévalence, de la généralisation de sa répartition et des difficultés inhérentes à sa prise en charge.

L'infertilité touche 80 millions de personnes dans le monde, un couple sur dix est confronté à une infertilité primaire ou secondaire. L'Algérie n'est pas épargnée par cette épidémie, plus de 300.000 couples ne parviennent pas à concevoir un enfant, de manière naturelle. Cette statistique se traduit par, approximativement, entre 10% et 12% de la population ciblée (Hamdi, 2013).

En effet, l'infertilité est due à des facteurs féminins, masculins ou une combinaison des deux dans respectivement 30%, 20% et 40% des cas. Il reste 10% des cas de cause indéterminée ou dite « idiopathique » (Coat *et al.*, 2011). Elle peut être expliquée par des problèmes hormonaux, immunologiques, environnementaux ou de la structure physique des organes reproducteurs. Toutefois, dans un certain nombre de cas, la cause de l'infertilité est inconnue en raison du manque de connaissance des mécanismes génétiques et moléculaires qui jouent un rôle dans le contrôle de la production de spermatozoïdes ou d'ovocytes et leurs maturations (Cameron, 2006).

Les couples infertiles ont toujours recours à l'assistance médicale à la procréation (AMP). L'insémination artificielle avec sperme de conjoint (IAC) est une simple technique d'AMP, son utilisation répond soit à la correction d'une anomalie mise en évidence lors du bilan, étiologie possible de l'infertilité, soit à une attitude thérapeutique empirique dans les infertilités idiopathiques (Geister *et al.*, 2015)

La génétique de l'infertilité est un nouveau champ de recherche qui a connu un essor au cours de ces dernières années. Des preuves ont montré que le système rénine-angiotensine (SRA) est impliqué dans les problèmes de fertilité observés dans certaines populations. Ainsi, depuis quelques années un intérêt particulier avait été accordé au polymorphisme du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (*ECA*). Des études ont examiné le rôle du gène *ECA* dans l'infertilité masculine et féminine (Pan *et al.*, 2013).

Le gène *ECA*, est localisé sur le chromosome 17 en q23, mesurant environ 21 Kb et constitué de 26 exons. Le clonage de l'ADNc de l'*ECA*, a permis d'identifier un polymorphisme d'Insertion (I)/Délétion (D) d'un fragment intronique de 287 pb, riche en séquence *Alu*, au sein de l'intron 16. Trois génotypes sont possibles, deux homozygotes (II et DD) et un hétérozygote (ID) (Laraoui, 2006).

Introduction

Ce polymorphisme du gène *ECA* est le premier variant génétique associé aux performances physiques humaines et présente un fort déséquilibre de liaison avec les facteurs génétiques qui influent sur les concentrations sériques en ECA (Kucera *et al.*, 2001 ; Poornima *et al.*, 2015).

En Algérie, aucune étude antérieure ou en cours sur la corrélation entre l'infertilité du couple et le polymorphisme I/D du gène ECA. Par conséquent, le but de ce travail est de :

- étudier les paramètres épidémiologiques et anatomo-cliniques des couples infertiles ;
- analyser les paramètres spermatiques ;
- apprendre et appliquer la technique d'IAC ;
- faire une exploration moléculaire du polymorphisme du gène ECA chez les couples infertiles.

Etude

bibliographique

I. Anatomie et physiologie de la reproduction

1. Appareil génitale masculin

L'appareil génital masculin assure la production des gamètes mâles ou spermatozoïdes, leur transport, leur nutrition, leur stockage dans les voies génitales masculines ainsi que leur expulsion dans les voies génitales féminines lors de la copulation. Il comprend les organes génitaux externes (pénis et scrotum), les testicules et les voies spermatiques ainsi que les glandes annexes sécrétrices du liquide séminal (Figure 1) (Thibault *et al.*, 2001).

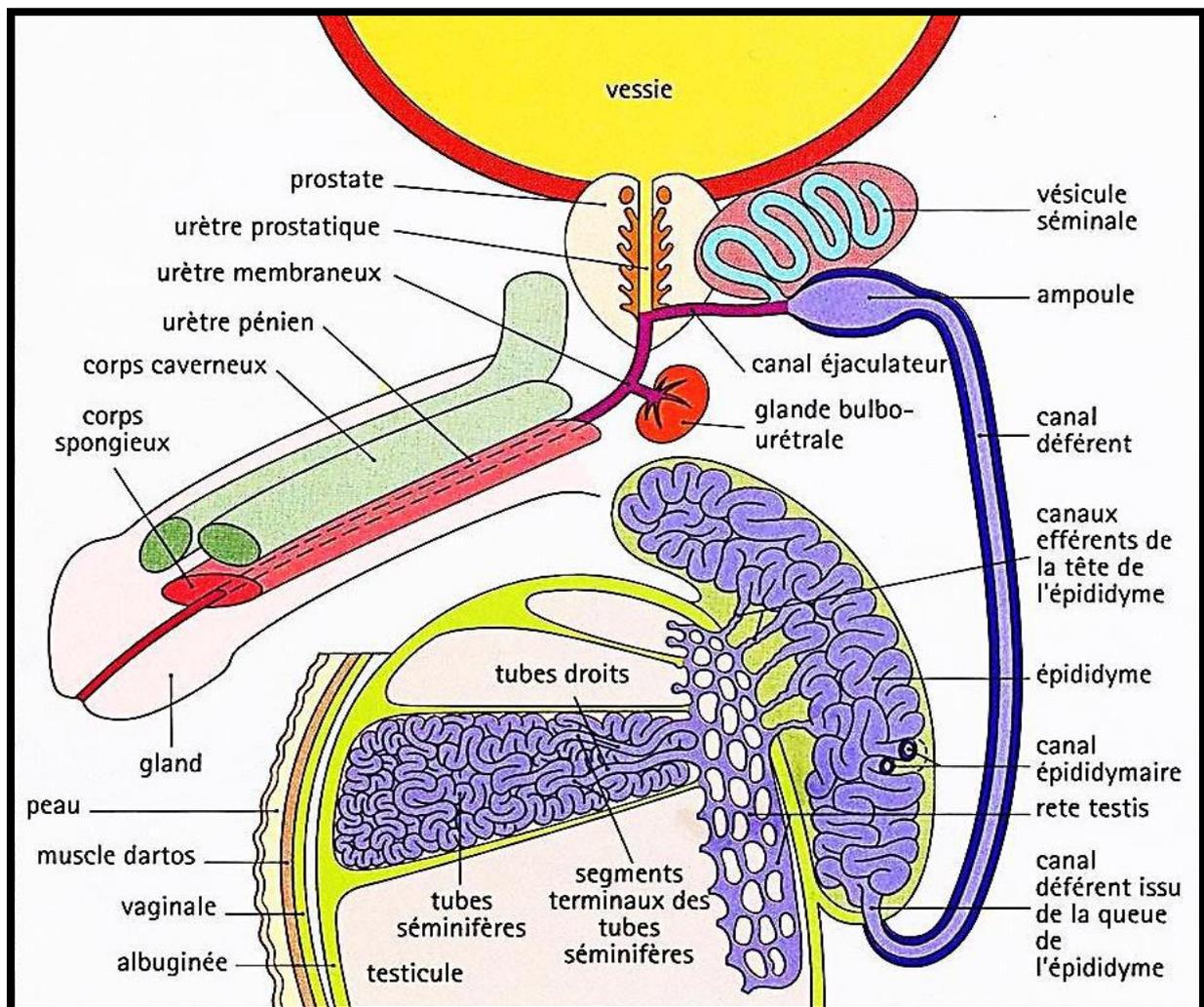


Figure 1 : Schéma anatomique de l'appareil génital masculin adulte (Auger *et al.*, 2009)

2. Appareil génital féminin

L'appareil génital féminin regroupe un ensemble d'organes situés dans la cavité pelvienne : les ovaires, les trompes de Fallope, l'utérus et le vagin (organes génitaux internes). Le vagin se poursuit par la vulve qui comprend le vestibule, les petites lèvres, les grandes lèvres et le clitoris (organes génitaux externes) (Coussieu, 2004).

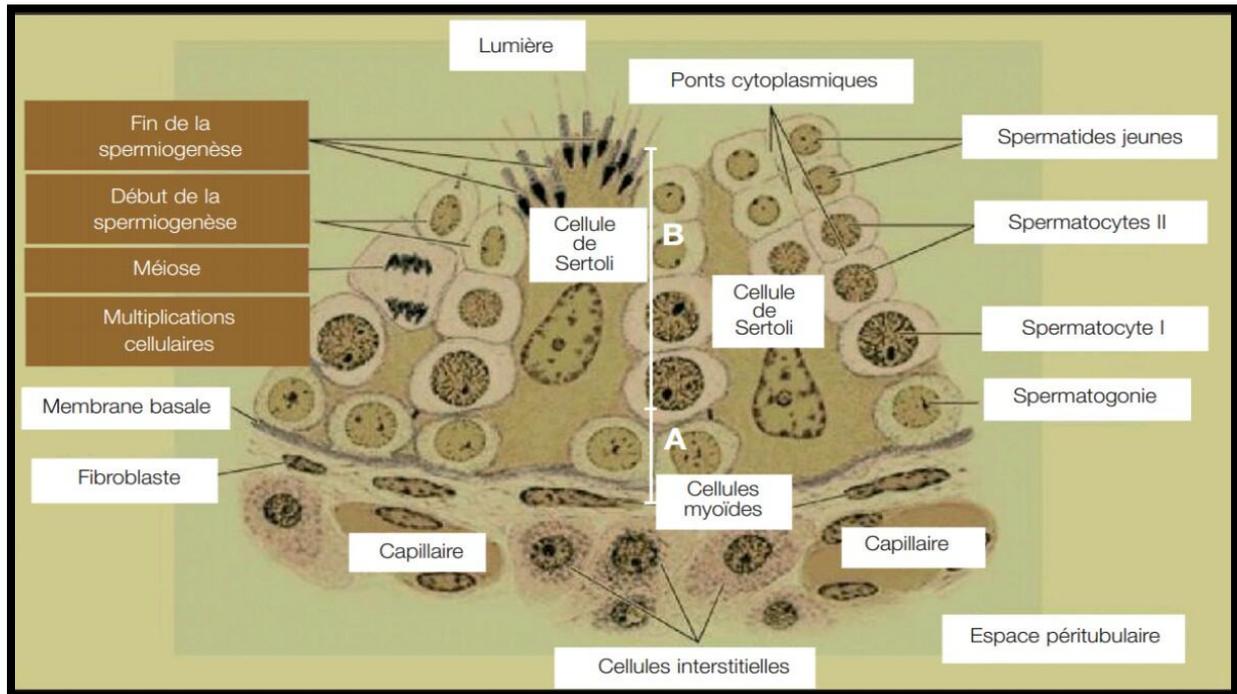


Figure 3 : Schéma simplifié d'une portion transversale de tube séminifère montrant les différentes étapes de la spermatogenèse (Auger *et al.*, 2009)

3.1.1. Le spermatozoïde

Le spermatozoïde est une cellule sexuelle haploïde spécialisée de forme allongée. Le spermatozoïde humain a une longueur de 60 μm (figure 5) :

- **La tête** de 3 à 5 μm de long élargie entièrement en forme de spatule dont la partie effilée porte l'acrosome à la manière d'un capuchon.
- **Le col** qui mesure 1 μm de long, comprend le centriole proximal et les clones segmentés. Il réalise la jonction entre la tête et la pièce intermédiaire.
- **La pièce intermédiaire** est de 6 μm de long s'étend du centriole distal à l'anneau de Jensen. Elle comprend le flagelle en position axiale, un anneau périphérique, l'hélice mitochondriale et une mince couche cytoplasmique dilatée.
- **La pièce principale** est la partie la plus longue de 40 à 50 μm de long, contient le flagelle en position axiale.
- **La pièce terminale** de 5 à 10 μm de long constituée uniquement des tubules de flagelle (Nazzal, 2002).

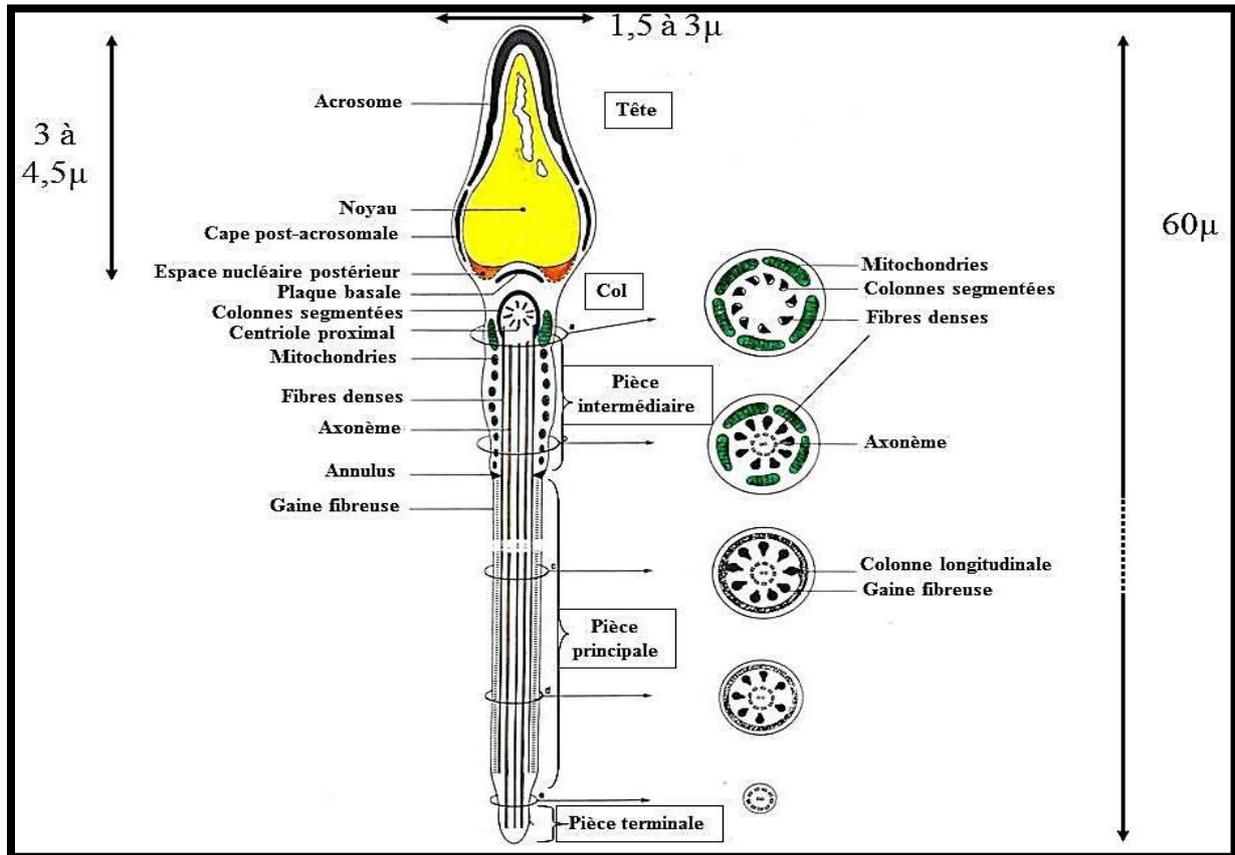


Figure 4 : Représentation schématique de l'ultra-structure du spermatozoïde (Faure, 2010)

3.1.2. Régulation de la spermatogenèse

- Contrôle hormonal

La spermatogenèse dépend de signaux émanant d'un axe formé par l'hypothalamus, l'hypophyse et la gonade (Figure 4). Cette signalisation débute par une sécrétion pulsatile de la GnRH (*Gonadotrophin Releasing Hormone*) par les cellules neurosécrétrices de l'hypothalamus. La fixation du GnRH aux récepteurs des cellules gonadotropes situés dans l'antéhypophyse stimule la synthèse et la sécrétion des deux gonadotrophines, l'Hormone Folliculo-Stimulante (FSH) et l'Hormone Lutéinisante (LH). Ces deux gonadotrophines stimuleront les fonctions exocrines et endocrines de la gonade (Tachdjian *et al.*, 2016).

La FSH est responsable de l'initiation et du maintien de la spermatogénèse en agissant sur les cellules de Sertoli testiculaires dont elle stimule l'ensemble des sécrétions.

La stéroïdogénèse est commandée par la LH qui se fixe sur des récepteurs membranaires des cellules de Leydig où elle stimule, la biosynthèse de la testostérone essentiellement. La testostérone pénètre dans le compartiment tubulaire où elle se lie à une glycoprotéine de liaison, l'ABP (*Androgen Binding Protein*) pour conditionner le développement de l'épithélium séminal et le bon fonctionnement des voies génitales.

Etude bibliographique

La régulation de la fonction gonadotrope est caractérisée par un rétrocontrôle négatif exercé à la fois au niveau de l'hypothalamus et de l'hypophyse par la sécrétion testiculaire (Hazard et Perlemuter, 2000).

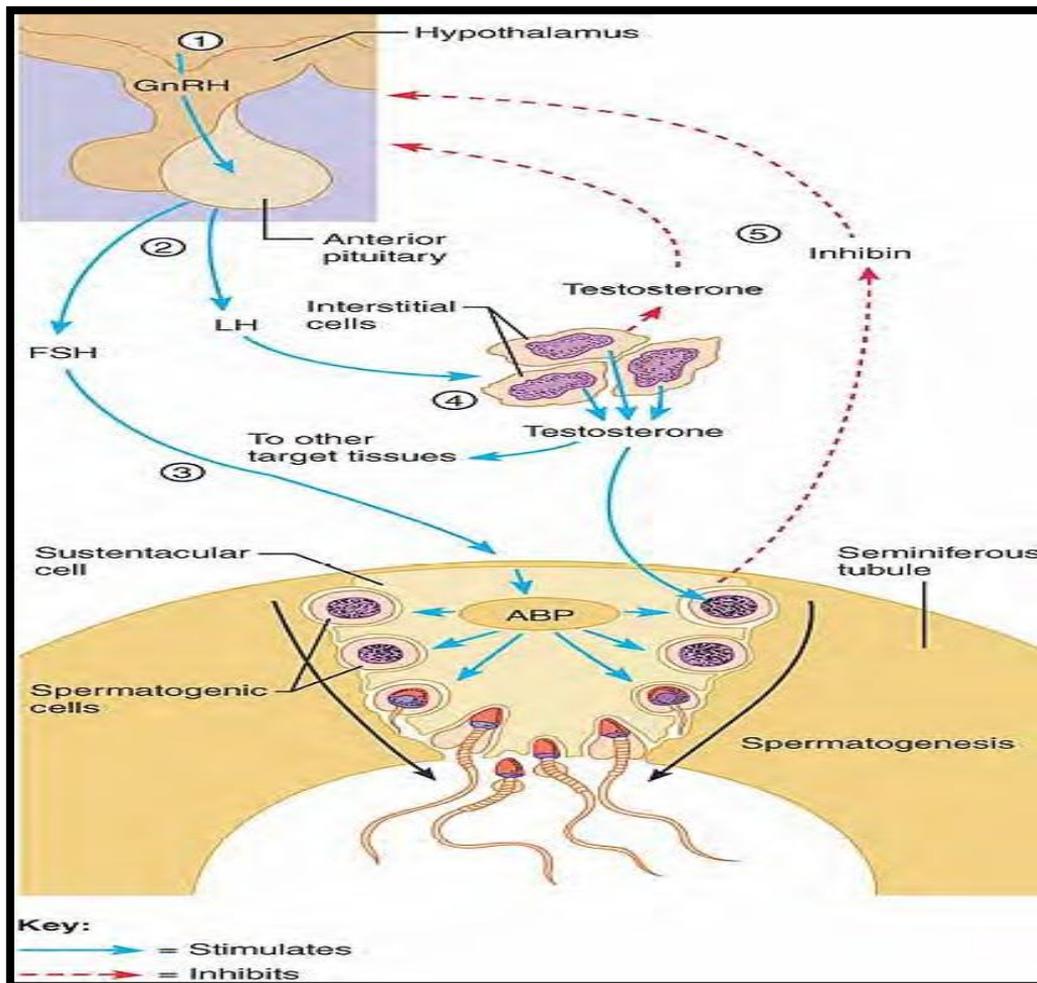


Figure 5 : Régulation hormonale de la spermatogenèse (Elaine & Katja, 2007)

- Contrôle paracrine

En plus d'être régulées par les hormones, les fonctions des différentes cellules du testicule sont soumises à une régulation paracrine au cours de la spermatogenèse. Cette régulation est due à des substances (protéines, peptides...), sécrétées par une cellule ou un groupe de cellules, qui agissent sur des cellules voisines à l'intérieur du testicule. La plupart des substances sécrétées par la cellule de Sertoli influencent la stéroïdogénèse dans la cellule de Leydig, notamment : les inhibines et les activines, l'IGF1, le TGF β , l'EGF, quant à l'IL1 et l'IL6 (Idelman et Verdeti, 2000 ; Poncelet et Sifer, 2011).

3.2.Ovogenèse

L'ovogenèse est un processus discontinu qui débute à la 15^{ème} semaine de la vie embryonnaire par la multiplication mitotique des ovogonies, qui se poursuivent jusqu'au 7^{ème} mois de la vie fœtale pour aboutir à la constitution d'un stock 7 millions d'ovogonies. À ce stade les ovogonies sont entourées par une couche de cellules folliculeuses. Les mitoses stoppent à la 28^{ème} semaine de grossesse. Durant cette période de temps, de très nombreuses ovogonies sont éliminées (atrésie), et les autres commencent leur entrée en méiose transformant les ovogonies en ovocytes du premier ordre (Thiry et Poncin, 2005 ; Oktem et Oktay, 2008).

Le processus de folliculogénèse commence par de la méiose. Les ovocytes I entrent en méiose mais restent bloqués sous l'action de l'*Ovocyte Maturation Inhibiteur* (OMI) au stade diplotène de prophase de la première division méiotique, et ne reprendront qu'au moment de la puberté. Durant cette phase, l'ovocyte accumule des réserves nutritives et s'entoure d'une enveloppe folliculaire formant ainsi un follicule ovarien. A la naissance, le pool de cellules gamétiques d'une fillette est d'environ 1 million, seulement 300.000 à 400.000 se trouvent à l'adolescence. Quelques ovocytes I par cycles menstruels poursuivront ensuite leur méiose. En règle générale, un seul d'entre eux terminera la méiose I et débutera la méiose II, avant d'être bloqué une nouvelle fois au stade de métaphase II. La division cellulaire en méiose I n'induit pas la formation de deux cellules identiques comme chez l'homme, cela est dû par l'expulsion du premier globule polaire entraînant ainsi la réduction de la moitié du matériel chromosomique. L'ovocyte II ne terminera sa seconde division méiotique que si la fécondation à lieu (Figure 6) (Patiño et Sullivan, 2002 ; Oktem et Oktay, 2008).

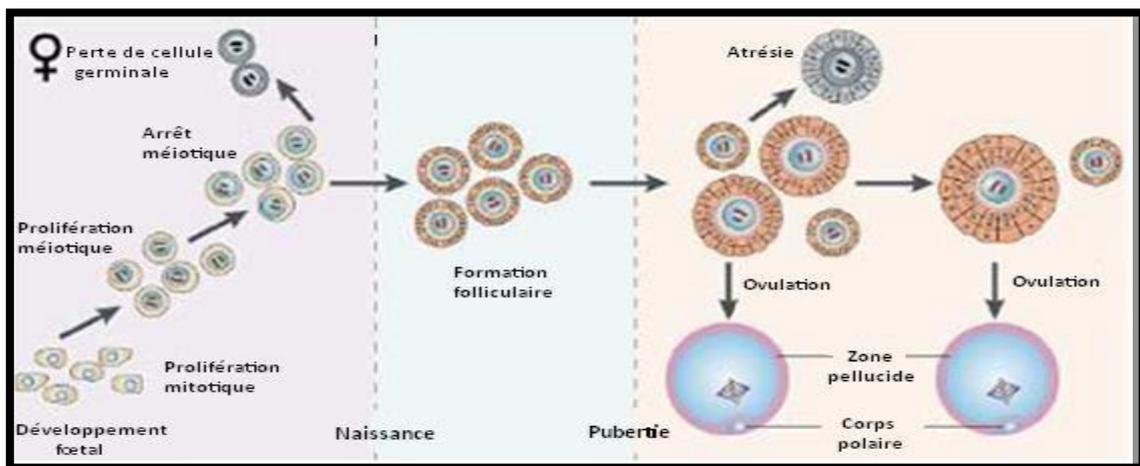


Figure 4 : Représentation schématique de l'ovogenèse (Hassold et Hunt, 2001)

- Cycle ovarien

Etude bibliographique

Le cycle ovarien ou cycle menstruel est défini comme étant l'ensemble des modifications de l'appareil génital féminin, du 1er jour des règles jusqu'au 1er jour des règles à venir. Il dure 28 jours : ce cycle débute et se termine par la menstruation et comporte 3 grandes phases : folliculaire, ovulatoire et lutéale. Au cours de ces phases, une variation cyclique des gonadotrophines hypophysaires, la LH et la FSH qui contrôlent la synthèse des hormones stéroïdes ovariennes, les œstrogènes, la progestérone et les androgènes. Ces deux hormones hypophysaires sont elles-mêmes sous le contrôle d'une hormone hypothalamique, libéré de manière pulsatile, la GnRH (Beaudeau et Durand, 2008). La FSH est la seule gonadotrophine impliquée dans le recrutement. Le développement de la cohorte de follicules recrutés s'accompagne d'une élévation de l'œstradiol et de l'inhibine qui rétrocontrôlent négativement la production de FSH. Les taux de FSH baissant, les follicules les moins sensibles arrêtent leur développement et partent en atresie alors que le follicule dominant (seuil de sensibilité haut) se maintient et portera le nom de follicule de DE GRAFF. Pendant ce temps, au niveau de l'utérus, sous l'influence des œstrogènes, l'endomètre qui avait été éliminé lors des règles commence à se régénérer ; c'est la phase proliférative (Mihm *et al.*, 2011).

Les taux croissants d'œstradiol déclenchent le pic ovulatoire de LH. La LH agit sur les cellules de la granulosa pour entraîner leur dissociation et la rupture des liens entre corona radiata et ovocyte. Elle induit la reprise de la méiose ovocytaire et l'ovulation (Lesourd, 2010).

En phase lutéale, le follicule de DE GRAFF qui libère l'ovocyte mature va se remplir de sang (follicule hémorragique) et ses cellules vont se modifier. Il va dès lors sécréter principalement de la progestérone (et aussi un peu d'œstrogène), qui atteint un pic maximal vers le 9ième jour post-ovulatoire en l'absence de fécondation et nidation. La progestérone inhibe par rétrocontrôle la synthèse de LH, le corps jaune va commencer à régresser et les taux de progestérone et des œstrogènes vont diminuer. Le développement de l'endomètre qui se prépare à une éventuelle nidation s'est amorcé. Sous l'action de progestérone, la paroi de l'endomètre s'épaissit et se vascularise (phase sécrétoire) (Annexe I). En absence de nidation suite à la chute de la progestérone, cette paroi va être éliminée en fin de cycle, ce qui déclenche des saignements : les menstruations (Gougeon, 2008 ; Sèdes, 2014).

Cette fonction endocrine est régulée à l'intérieur de l'ovaire par des facteurs paracrine synthétisés par les cellules de la granulosa (IGF2, IGF-BPs, inhibine, activine, follistatine, EGF, TGF- β 1 et le 17 β œstradiol) et les cellules de la thèque interne (IGF1, EGF, TGF- β 2 et les androgènes) (Lesourd, 2010).

II. Infertilité du couple

1. Epidémiologie

En 2010, l'organisation mondiale de santé (OMS) a analysé les résultats de données de 277 enquêtes démographiques sur la prévalence de l'infertilité (nationale, régionale, et mondiale). Cette étude avait pour but d'estimer la prévalence et les tendances de l'infertilité dans 190 pays, les résultats ont montré que 48,5 millions de couple souffraient d'infertilité, et la prévalence était plus élevée en Asie du Sud, en Afrique subsaharienne, Afrique du Nord / Moyen-Orient et Europe centrale / et en Asie centrale (Maya *et al.*, 2012).

Environ 15% des couples en âge de procréer consultent pour infertilité. Un couple sur dix est confronté à une infertilité primaire ou secondaire. Elle est due à des facteurs féminins (30%), masculins (20%) ou associés (40%). Il reste 10% d'infertilité idiopathique (Coat *et al.*, 2011). Une étude menée par Mascarenhas et ses collaborateurs estime la prévalence de l'infertilité féminine dans différents pays du monde (Tableau 1).

Tableau 1 : Estimation du taux de prévalence de l'infertilité primaire et secondaire chez les femmes âgées de 20-49ans (Mascarenhas *et al.*, 2012)

Pays	Année	Prévalence (%)	
		Primaire	Secondaire
Viêt-Nam	2002	0,8	13,8
Turquie	2003	2,3	15,9
Philippines	2003	2,7	17,7
Kenya	2003	1,0	11,6
Tanzanie	2004	1,8	16,5
Bangladesh	2004	1,7	20,5
Arménie	2005	1,3	32,6
Moldavie	2005	3,2	29,5
Inde	2005	2,7	24,6
Indonésie	2007	2,1	17,7
Egypte	2008	3,1	14,7

Ainsi, la prévalence de l'infertilité masculine varie d'une région à une autre. Elle est de l'ordre de 27,7% en Australie et Nouvelle-Irlande, 36% en Afrique du Sud, Indonésie et Finlande, 38,9% en Iran, 42,4% à Nigeria (Mascarenhas *et al.*, 2012).

En France cette prévalence est augmentée jusqu'au 59% (Thonneau *et al.*, 1991), alors qu'au Canada, elle se situe entre 30-40 % (Gunby *et al.*, 2010).

Les études maghrébines montrent que l'infertilité est d'origine masculine chez environ 30% des cas (Huyghe *et al.*, 2008). Selon les enquêtes nationales menées par le ministère de la santé de la population et de la réforme hospitalière entre 1992 et 2002, l'Algérie compte plus de 300.000 couples souffrant de l'infertilité (Hamdi, 2013).

2. Etiologies de l'infertilité du couple

2.1. Chez la femme

- **Âge maternel**

L'augmentation de l'âge maternel a des effets marqués surtout sur la baisse de la fécondabilité et sur l'augmentation du risque d'avortements. La baisse de la fertilité avec l'âge s'explique par la diminution avec les années de la réserve ovarienne, de la qualité ovocytaire et de la réceptivité utérine. De plus, la survenue d'une grossesse après 40 ans expose la patiente à une surmortalité importante et des complications gravidiques. Aussi, il existe des risques d'anomalies génétiques non négligeables, comme la trisomie 21 de 0,30 % à 30 ans, 1,35 % à 40 ans et 2,5 % à 42 ans (Brzakowski *et al.*, 2009).

- **Infections génitales**

Les femmes ayant été touchées par des infections génitales ont plus de risque de voir leur fertilité diminuée. En effet, à l'issue d'infections sexuellement transmissibles, le risque est multiplié par 7,5 chez les femmes présentant une infertilité primaire et par 5,7 dans le cas d'une infertilité secondaire (Lansac et Guérif, 2005).

Les infections génitales liées à *Chlamydia* et *Gonocoque* entre autres, multiplieraient les risques d'obstruction tubaire (représentant 26% des causes d'infertilité) par 32,1 pour une infertilité primaire et par 22 pour une infertilité secondaire (Lansac et Guérif, 2005).

- **Antécédents chirurgicaux**

Toute chirurgie abdomino-pelvienne peut être à l'origine d'adhérence tubo-pelvienne ou d'exérèse (ovaire, trompe...), elle multiplie le risque d'infertilité primaire par 4,7 et secondaire par 7,1 (Lansac et Guérif, 2005).

- **Facteurs hygiéno-diététiques**

- **Tabac**

Les éléments chimiques qui composent la cigarette, tels que le benzopyrène et le cadmium, ont été retrouvés en quantité importante dans le liquide folliculaire et le tissu ovarien des femmes fumeuses. Le tabac est un facteur de risque des désordres menstruels et de ménopause précoce car il diminue le taux d'œstradiol. Ainsi, il augmente le risque de grossesse ectopique et d'avortement spontané en début de grossesse (Berthiller et Sasco, 2005 ; Sépaniak *et al.*, 2006).

- **Poids**

De nombreuses études épidémiologiques sur de grandes cohortes ont démontré le lien entre poids de la femme et ses chances de grossesses, le risque de mettre plus d'un an à concevoir est augmenté de (27%) en cas de surpoids, et de (78%) en cas d'obésité (Ramlau-Hansen *et al.*, 2007).

Le poids est un facteur majeur du risque d'infertilité par anovulation. Ce risque est multiplié par 1,3 pour un indice de masse corporelle (IMC) compris entre 24 et 25,9 kg/m² et par environ 3,7 pour un IMC supérieur à 32 kg/m². La répartition des graisses au niveau abdominal est directement liée aux troubles du cycle menstruel et aux chances de conception après traitement (Pasquali et Gambineri, 2006).

- **L'alimentation**

Le statut nutritionnel d'une femme et son régime alimentaire auraient un rôle dans la fertilité. Des modèles diététiques spécifiques, riches en acides-gras oméga-3 et contenant des micronutriments, comme la vitamine D, ont révélé un impact sur la fertilité (Mmbaga *et al.*, 2012).

2.2.Chez l'homme

- **Âge paternel**

Un âge supérieur à 55 ans diminue nettement les chances d'avoir un enfant ou provoque un risque accru d'avoir un enfant anormal. L'âge est responsable d'une altération de la spermatogénèse. La plupart des études ont montré que le vieillissement paternel est associé à des changements dans les paramètres du sperme. Plus précisément, il est lié à la baisse du volume de sperme, la motilité des spermatozoïdes et leur morphologie (Lansac et Guérif, 2005 ; Brzakowskia *et al.*, 2009).

Etude bibliographique

- **Infections génitales**

Les antécédents d'infections sexuellement transmissibles multiplient par 1,9 les infertilités primaires et par 5,8 les infertilités secondaires (Lansac et Guérif, 2005).

- **Facteurs urologiques**

Les antécédents traumatiques de torsion testiculaire uni-ou bilatérale, une cryptorchidie opérée ou non, la présence d'une varicocèle et les antécédents d'infections sexuellement transmissible augmentent le risque d'infertilité (Weber *et al.*, 2005).

- **Facteurs hygiéno-diététiques**

- **Tabac**

Le tabagisme a des effets délétères sur la fertilité masculine. Des études ont montré qu'il existe un passage de la barrière hémato-testiculaire de certaines substances contenues dans la fumée de cigarette. La présence de tels composés dans le liquide séminal des fumeurs entraîne une altération des paramètres spermiologiques classiques et de la qualité nucléaire des spermatozoïdes, compromettant de ce fait les chances de grossesse. Au-delà de cette diminution de la fertilité masculine, le tabagisme a également des répercussions sur la descendance de ces fumeurs : embryons de qualité médiocre, développement de certains cancers dans la prime enfance. Le stress oxydatif généré par le tabac semble être l'une des principales causes d'altération de la qualité des spermatozoïdes (Sépaniak *et al.*, 2006).

- **Poids**

Les hommes souffrant d'embonpoint ou d'obésité présentent souvent un profil altéré des hormones de la reproduction se caractérisant entre autres par un taux diminué de testostérone. Ils sont également plus à risque d'éprouver des problèmes érectiles (Chavarro *et al.*, 2010). Un seul article rapporte qu'un amaigrissement obtenu après régime permettrait d'améliorer la quantité et la qualité des spermatozoïdes. Cependant, un impact négatif de la chirurgie bariatrique sur les paramètres spermatiques a été observé (Sermondade *et al.*, 2012).

- **Alimentation**

Chez l'homme, il ne semble pas avoir de corrélation étroite entre alimentation et fertilité, sauf en cas d'anorexie sévère (Hazard et Perlemuter, 2000).

2.3. Facteurs de risque d'infécondité liés au couple

- Environnement hostile et toxique : les métiers exposant aux radiations, aux ondes, à la chaleur (sidérurgie), aux métaux (plomb, mercure, manganèse, composés chromés), aux herbicides et pesticides diminuent la fertilité.
- Eloignement des deux partenaires : la mobilité géographique d'un des deux conjoints, des horaires décalés... diminuent la probabilité de conception par la diminution de la fréquence des rapports sexuels.
- La fréquence des rapports sexuels : Plus les rapports sont fréquents, plus le délai nécessaire à concevoir (DNC) diminue et les chances de concevoir augmentent. Bien sûr, il faut tenir compte de la période ovulatoire, où la fécondabilité est maximale du treizième au quinzième jour du cycle (Lansac et Guérif, 2005).

3. Etiologies de l'infertilité féminine

3.1. Anomalie du vagin

Le vaginisme est le spasme involontaire récurrent ou persistant de la musculature du tiers externe du vagin qui interfère la pénétration vaginale (Scott *et al.*, 2003).

3.2. Anomalie du cervix

La glaire cervicale peut être sécrétée de façon inadéquate. De plus, l'exposition longue des glandes cervicales à des infections, des dysfonctionnements des glandes endocervicales ou être consécutives à des traitements de lésions du col de l'utérus, ceux-ci peuvent englober les spermatozoïdes ou produire des composés chimiques qui leur sont toxiques. Le mucus cervical serait hostile s'il est acide (Godwin, 2004).

3.3. Anomalie de l'utérus

3.3.1. Fibrome

Les fibromes utérins sont des tumeurs de muscle lisse de l'utérus. Le léiomyome est un terme plus scientifique pour le fibrome. Les chercheurs pensent que les myomes interfèrent avec la contractilité utérine normale et le transport des gamètes et puissent changer le flux sanguin endométrial, menant à l'atrophie ou l'ulcération et la diminution de l'incidence de l'implantation (Godwin, 2004).

3.3.2. Endométrite

L'endométrite est une inflammation de l'endomètre et peut résulter d'une infection avec des organismes tels que les bactéries de tuberculose. L'infertilité peut surgir par les effets des

toxines produites par les bactéries et les sécrétions anormales à partir des glandes endométriales infectées (Godwin, 2004).

3.3.3. Syndrome d'Asherman

Les adhérences intra-utérines ou les synéchies (syndrome d'Asherman) peuvent se développer quand les surfaces endométriales opposées sont endommagées et qui se cicatrisent comme une adhérence fusionnée. Ceci se produit typiquement quand une inflammation ou une infection persiste après avortement spontané du premier trimestre et quand la production d'œstrogènes est faible. Les patientes qui ont eu des curetages puerpéraux retardés pour les fragments placentaires maintenus, sont à haut risque pour le développement du syndrome d'Asherman (Godwin, 2004).

3.3.4. Malformations utérines

Si les femmes qui ont des problèmes avec leurs menstruations (trop ou peu abondantes ou irrégulières, ou il n'y a pas une communication entre la cavité utérine et le vagin pour permettre à la perte menstruelle de s'écouler) deviennent enceintes, elles peuvent avoir des problèmes tels que des avortements répétés ou des naissances prématurées répétées (Godwin, 2004).

3.4. Anomalie des trompes de Fallope

L'infection dans les voies génitales inférieures (vagin et cervix) peut se propager vers les trompes causant alors une salpingite (Godwin, 2004).

3.5. Anomalie de l'ovaire

3.5.1. Insuffisance ovarienne prématurée

L'insuffisance ovarienne prématurée est une entité unique dans laquelle une femme subit des changements semblables à la ménopause, telle que l'aménorrhée, les niveaux élevés de FSH, et l'épuisement des follicules ovariens, avant l'âge de 40 ans (Scott *et al.*, 2003).

3.5.2. Hypogonadisme Hypogonadotrophique

Il s'agit d'un ensemble de troubles ayant en commun un manque ou une production déficiente de gonadolibérine (GnRH) ou l'hormone folliculostimuline (FSH) ou encore l'hormone lutéinisante (LH) (Godwin, 2004).

3.5.3.Syndrome d’ovaire poly kystique (SOPK)

Le SOPK est une pathologie complexe d’origine ovarienne qui touche environ 10% des femmes. Il est la conséquence d’une altération de la sélection du follicule dominant avec une accumulation de petits follicules qui sécrètent en excès des androgènes. Ce syndrome associe un terrain génétique et des facteurs environnementaux. Le SOPK pourrait débuter dès la vie intra-utérine, il pourrait illustrer le phénomène de programmation hormonale ayant lieu pendant la vie fœtale (Nugent *et al.*, 2012).

3.5.4. Dysfonctionnement pituitaire

La cause classique la plus fréquente de dysfonctionnement pituitaire est l’hyperprolactinémie. Elle se produit dans environ 15% de patientes présentant une aménorrhée. Il existe plusieurs causes de l’élévation de prolactine : physiologiques, pharmacologiques, et pathologiques. Les chercheurs spéculent que l’hyperprolactinémie peut empêcher la sécrétion de GnRH et peut affecter la dopamine, qui influence alors sur les pulses de GnRH (Keel *et al.*, 2000).

3.6.Endométriose

L’endométriose est définie par la présence des glandes et de stroma endométriales en dehors de la cavité endométriale et de la musculature utérine. Le bassin est le site le plus fréquent de l’endométriose, mais les implants endométriotiques peuvent se produire presque n’importe où dans le corps.

Le tissu endométriotique produit des substances toxiques qui peuvent interférer avec l’interaction entre les spermatozoïdes et l’ovocyte dans la trompe utérine causant de ce fait l’infertilité (Godwin, 2004).

3.7.Avortements spontanés à répétition (ASR)

Ils sont définie classiquement en tant que trois avortements spontanés ou plus. Les chercheurs font parfois une distinction entre ASR primaires et secondaires. Les ASR primaires concernent les femmes qui n’ont jamais eu un enfant né vivant, tandis que les femmes avec ASR secondaires ont au moins un enfant né vivant (Keel *et al.*, 2000).

L’étiologie des ASR peut être retrouvée dans approximativement la moitié des cas. Ceux-ci incluent les causes chromosomiques (3,5%), anatomiques (16%), endocriniennes (20%), infectieuses (0,5%), et immunologiques (20%) (Stephenson, 1996).

4. Classification de l'infertilité masculine selon l'étiologie

L'infertilité masculine est un syndrome multifactoriel englobant une grande variété de troubles.

4.1. Classification spermiologique

La stérilité masculine est diagnostiquée sur la base des paramètres spermatiques (Tableau 2).

Tableau 2 : Définition des paramètres spermatiques normaux et anomalies associées (OMS, 2010)

Valeurs normales	Définitions de l'anomalie	
Volume du sperme : > 1,5 ml (1,4 à 1,7)	< 1,5 ml : hypospermie	
	> 6 ml : hyperspermie	
Numération des spermatozoïdes (par ml) : > 15 millions/ml (12 à 16)	< 15 millions/ml : oligozoospermie 0 : azoospermie	
Numération des spermatozoïdes (par éjaculat) : > 39 millions (33 à 46)	< 39 millions/éjaculat 0 : azoospermie	
Mobilité des spermatozoïdes à la première heure après l'éjaculation. <ul style="list-style-type: none"> - Grade (a) : mobilité en trajet fléchant, rapide (>25 µm/s), - Grade (b) : mobilité lente et progressive (5-25 µm/s), - Grade (c) : mobilité sur place, - Grade (d) : immobile. 	Mobilité progressive de type (a + b) des spermatozoïdes : < 32% (31 à 34) (ou < 30%)	Asthénospermie
	Mobilité de type (a + b + c) des spermatozoïdes : < 40 % (38 à 42)	
	Chute de mobilité inférieure à 50% comparativement aux chiffres de la première heure	
Mobilité à la quatrième heure après l'éjaculation.		
Morphologie normale des spermatozoïdes : > 30% > 4% (3,0 à 4,0) (se rapproche de la classification Kruger) Ou : > 15% (selon la classification de David modifiée par Auger et Eustache).	< 4% : tératozoospermie	
Leucocytes < 1 million/ml > Leucospermie		
Vitalité des spermatozoïdes : > 58% (55 à 63)	< 58% : nécrozoospermie	
Ph	> 7,2	

4.2. Classification selon le type d'infertilité

L'infertilité est dite "primaire" lorsque le couple n'a jamais conçu, "secondaire" lorsqu'il ya déjà eu une ou plusieurs grossesses à terme et "primo-secondaire" concerne quant à elle les

couples où une grossesse a démarré mais sans naissance d'un enfant : c'est le cas des fausses couches (Hazard et Perlemuter, 2000).

4.3. Classification physiopathologiques

Les infertilités masculines peuvent être classées en deux formes : obstructives excrétoires dans 30 à 40 % des cas et non obstructives sécrétoires dans 60 à 70% des cas (OMS, 2010).

a. Forme excrétoire (obstructives)

- L'infertilité obstructive congénitale

Dans ce cas les spermatozoïdes sont correctement produits au niveau des testicules mais les canaux déférents et/ou vésicules séminales sont absents (agénésie bilatérale des canaux déférents), de tel sorte que les spermatozoïdes n'atteignent pas l'éjaculat (Nazzal, 2002).

- L'infertilité obstructive acquise

Des lésions entraînent des obstructions au niveau l'épididyme et/ou canaux différentielles (tumeurs testiculaires, séquelles interventionnelles ou inflammatoires, des rares volumineux kystes prostatiques comprimant les canaux éjaculateurs), troubles de l'éjaculation (paraplégie, troubles sexuels, éjaculation rétrograde).

b. Forme sécrétoire (non obstructive)

- L'infertilité non obstructive centrale

Anomalie due à une spermatogenèse incomplète ou impossible. Il s'agit soit d'un déficit de stimulation des testicules par les gonadotrophines (FSH, LH), ou une atteinte congénitale ou acquise du testicule. On distingue l'hypogonadisme hypergonadotrophique qui est une atteinte testiculaire dont les causes sont congénitale avec anomalie de caryotype (Syndrome de Klinefelter, hermaphrodisme, syndrome de Sohval), ou congénitale sans anomalie de caryotype (Syndrome de La Chapelle (46 XX), Syndrome Del Castillo, cryptorchidie, Anorchidie) ou encore acquise (Infectieuses, traumatiques ou iatrogènes) (Hazard et Perlemuter, 2000).

Tandis que les causes de l'hypogonadisme hypogonadotrophique peuvent être hypothalamique congénitale (Syndrome de Kallmann de morsier, syndrome Prader-willi ou syndrome adipo-génital) ou hypothalamo-hypophysaire acquise (tumeurs hypothalamique hypophysaire, maladies infiltratives, lésions infectieuses, traumatismes chirurgicales ou radiotherapiques ou anomalies de réceptivité aux androgènes) (Nazzal, 2002).

- L'infertilité non obstructive testiculaire

Il s'agit d'une atteinte fonctionnelle du testicule, liée à une anomalie :

Congénitale : Anomalies génétiques (syndrome de Klinefelter, microdélétions du chromosome Y et mutations au niveau du récepteur de l'hormone folliculo-stimulante) (Ezeh *et al.*, 2004).

Acquise : La cryptorchidie, qu'elle soit uni ou bilatérale, opérée ou non, la dilatation anormale des veines spermatiques, ou varicocèle. L'altération ischémique (séquelle de traumatisme inguino-scrotaux ou de torsion testiculaire), antécédent d'orchite ourlienne, exposition à certaines substances toxiques (irradiation, chimiothérapie), l'exposition à la chaleur (Ezeh *et al.*, 2004).

5. Infertilité idiopathique

L'infertilité est dite inexplicée lorsque les tests standards de l'ovulation, la perméabilité des trompes et l'analyse du sperme, sont normaux (Bhattacharya et Hamilton, 2014).

Le comité de pratique de la société américaine de médecine de reproduction (ASRM) a publié des lignes directrices pour une évaluation de l'infertilité qui comprend une analyse du sperme, l'évaluation de l'ovulation, une hystérosalpingographie, et, le cas échéant, des tests pour la réserve ovarienne et la laparoscopie. Lorsque les résultats d'une évaluation de l'infertilité sont normaux, les praticiens attribuent un diagnostic d'infertilité inexplicée. Bien que les estimations varient, la probabilité que les résultats de tous ces tests pour un couple infertile soient normaux (à savoir que le couple a une infertilité inexplicée) est d'environ 15% à 30% (ASRM, 2006).

La prévalence de l'infertilité inexplicée est d'environ 25%, mais la condition est plus souvent diagnostiquée chez les femmes de plus de 35 ans, ce qui indique que la diminution des réserves ovarienne pourrait être un facteur contributif (Bhattacharya et Hamilton, 2014).

Comme les tests standard de fertilité ne sont pas exhaustifs, ils sont susceptibles de ne pas trouver d'anomalies subtiles dans la voie de la reproduction, y compris endocrinologique, immunologique et facteurs génétiques. La pertinence du terme «infertilité inexplicée» a donc été remise en question, car elle est sensible au nombre, nature et qualité des enquêtes utilisées (Bhattacharya et Hamilton, 2014).

III. Génétique de l'infertilité

La connaissance de relation génotype-phénotype représente une étape importante dans la prévention, le diagnostic et le traitement de l'infertilité.

Au cours des dernières années, l'attention s'est concentrée sur les études physiologiques et physiopathologiques du SRA de l'appareil reproducteur humain.

De plus en plus de preuves ont montré que le SRA est impliqué dans les problèmes de fertilité observés dans certaines populations. De plus, des altérations dans l'expression de l'enzyme 1 convertissant l'angiotensine (ECA1), de l'enzyme 2 convertissant l'angiotensine (ECA2) et l'enzyme 3 convertissant l'angiotensine (ECA3) pourraient être l'un des mécanismes les plus importants sous-jacents à l'infertilité féminine et masculine (Pan *et al.*, 2013).

1. Système rénine-angiotensine (SRA)

Le SRA joue un rôle prépondérant dans l'homéostasie sanguine et le contrôle des fonctions cardiovasculaires de l'organisme. Des composants classiques du SRA sont identifiés dans le système reproducteur, notamment dans les ovocytes, les cellules granulaires, les spermatozoïdes et les cellules de Leydig (Pan *et al.*, 2013).

De plus, les voies SRA locales, impliquées dans les événements de reproduction, sont également élucidées (Figure 7) (Pan *et al.*, 2013).

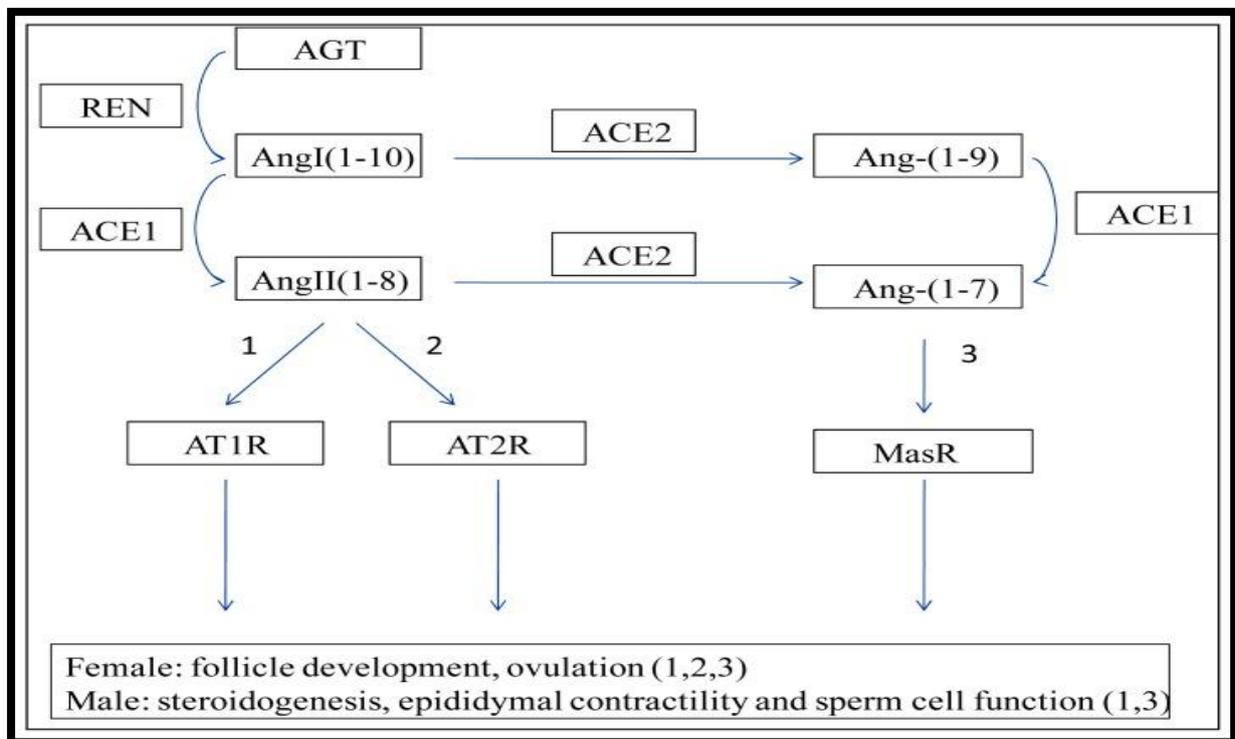


Figure 5 : Schéma du système local rénine-angiotensine(RAS) (Pan *et al.*, 2013)

2. Enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA)

2.1. Structure de l'ECA

L'ECA est une simple chaîne polypeptidique de 1340 acides aminés (Coates, 2003). L'ECA présente une structure protéique comportant quatre domaines distincts (Figure 8) : 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; deux domaines extracellulaires montés en séries, ayant entre eux une forte homologie (60%) et possédant chacun un site actif pouvant lier le zinc (Laraqui, 2006).

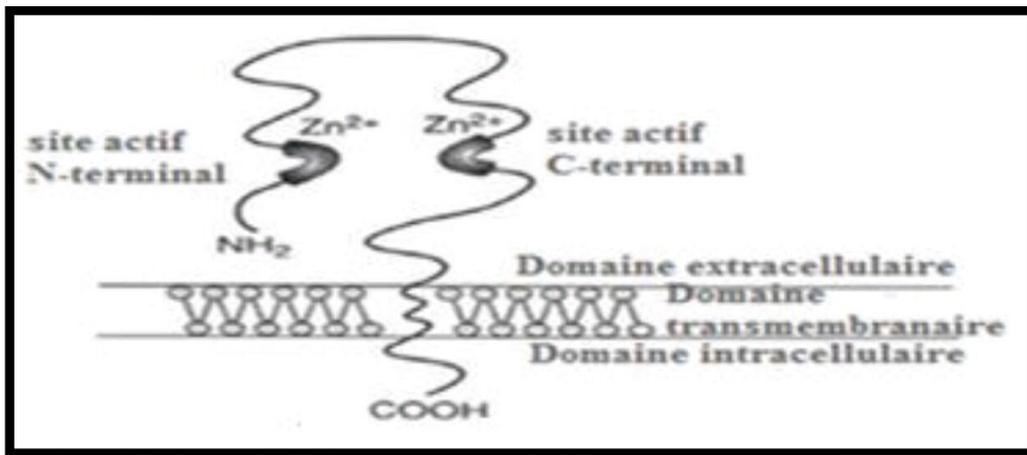


Figure 6 : Structure de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (Dzau *et al.*, 2001)

2.2. Fonction de l'ECA

La fonction majeure de l'ECA est d'hydrolyser les deux derniers acides aminés de l'extrémité carboxy-terminale des peptides. Son activité enzymatique est dépendante de la présence d'anions. La présence de l'atome de zinc et du chlore qui, modifiant la conformation allostérique du site actif, lui donne sa spécificité pour les substrats dipeptidiques (Laraqui, 2006).

L'ECA joue un double rôle : elle transforme l'angiotensine I (AngI) en angiotensine II (AngII), et elle dégrade la bradykinine en kinines inactives et les peptides neuronaux : substance P, enképhalines, la LH-RH. Un taux élevé d'ECA dans le plasma ainsi que dans les parois des vaisseaux favoriserait la formation d'AngII et la dégradation de la bradykinine (Baudin, 2005).

2.3. Gène de l'ECA

Le gène de l'ECA est localisé sur le bras long du chromosome 17 en position 17q23.3 (Annexe II), mesurant 21Kb et constitué de 26 exons et 25 introns (Figure 9). La longueur des

Etude bibliographique

exons varie de 88 paires de bases (pb) (exon 16) à 481 pb (exon 26) et celle des introns de 150 pb (introns 17 et 25) à 2000 pb (intron 20). Son transcrit mature, ayant une taille de 4,3 Kb et est traduit en un peptide de 1340 AA (Lian *et al.*, 2015).

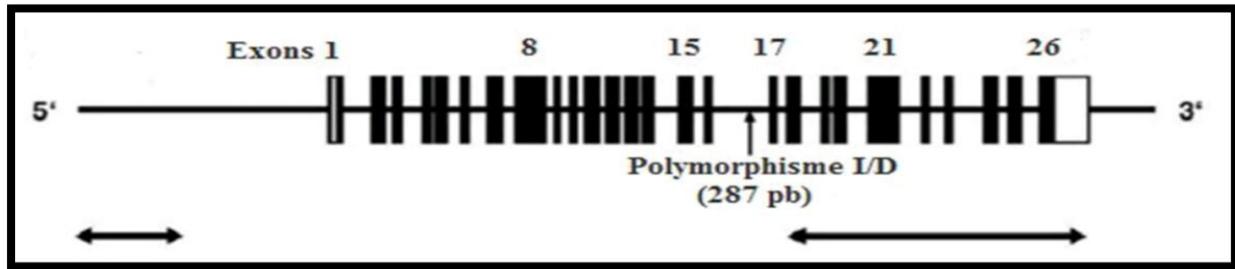


Figure 7 : Structure du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (Tchelougou, 2013)

Le gène code pour deux isoformes de l'ECA : une forme somatique (ECAs), avec une masse moléculaire de 170 kDa, qui est exprimée dans les tissus somatiques ; et une forme testiculaire (ECA_t) également appelée forme germinale (ECA_g), avec une masse moléculaire plus faible de 100 kDa, exprimés dans des cellules germinales dans les testicules (Pan *et al.*, 2013).

La transcription des deux types d'ECA est régulée par des promoteurs génétiques spécifiques et distincts, localisés sur le même gène. Elle donne lieu à une ECA somatique 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 (Pan *et al.*, 2013).

L'ECA somatique constitue l'iso-enzyme le plus abondant et se retrouve sous une forme soit liée aux membranes cellulaires (cellules endothéliales vasculaires, cellules épithéliales rénales, testiculaires de Leydig), soit soluble et en libre circulation dans le plasma (Pan *et al.*, 2013).

2.4. Polymorphisme génétique de l'ECA

Selon le Centre Nationale pour les Informations Biotechnologiques (NCBI), il a été répertorié plus de 160 polymorphismes génétiques de ce gène, dont la plupart sont des polymorphismes nucléotidiques simples (SNPs : *single nucléotide polymorphisms*). Seulement 34 de ces polymorphismes sont situés dans les régions de codage ; 18 d'entre eux sont des mutations faux-sens (Pan *et al.*, 2013).

Le clonage de l'ADNc de l'ECA a permis d'identifier un polymorphisme d'Insertion(I)/Délétion (D) d'un fragment intronique de 287 pb, riche en séquence *Alu*, au sein de l'intron 16 du gène. Ce polymorphisme expliquerait entre 30 et 40 % de la variabilité de la concentration plasmatique de l'ACE (Pan *et al.*, 2013).

La présence singulière de formes délétées ou insérées pour une séquence de 190 pb reflète l'existence de deux allèles : I (Insérée) de 490 pb et D (Délété) de 190pb et définit le polymorphisme du gène *ECA I/D*. Trois génotypes sont possibles, deux homozygotes (II et DD) et un hétérozygote (ID) (Laraqui, 2006).

Les mutations responsables de ce polymorphisme n'ont pas encore été identifiées, mais les hypothèses actuelles prétendent que ces mutations se trouveraient dans une partie de l'exon 18, dans la région 3' UTR, par contre, d'autres auteurs incriminent d'autres variantes comme étant responsables de ce polymorphisme (zones en flèches doubles sens dans la figure 9) (Tchelougou, 2013).

2.5.Expression des ECA dans les ovaires et les testicules

2.5.1. ECA de l'ovaire

- ECA1

L'ECA1 est principalement exprimé dans les gros follicules des ovaires. Il est distribué à la surface des ovocytes folliculaires et dans la zone pellucide, ce qui indique sa régulation pendant le développement folliculaire et la maturation de l'ovocyte (Pan *et al.*, 2013).

L'AngII, qui se trouve principalement dans les cellules de la granulosa, est également impliqué dans le développement de l'atrésie par l'induction locale d'une augmentation du rapport entre le liquide folliculaire et l'androgène à l'œstrogène (Pan *et al.*, 2013).

Les faits susmentionnés impliquent que l'ECA1 a une influence indirecte sur le développement des follicules et de l'ovulation induit par l'AngII. Un autre mécanisme potentiel d'implication de l'ECA1 dans la fertilité féminine est l'accroissement du stress oxydatif. Il est rapporté que l'AngII favorise le stress oxydatif et exerce un effet pro-inflammatoire par l'activation d'AT1R. Ainsi, une augmentation des niveaux d'ECA1, qui produisent une AngII excessive, pourrait nuire à la capacité de reproduction en raison d'une augmentation du stress oxydatif (Pan *et al.*, 2013).

- ECA2

L'ECA2 est présent dans les ovaires. Les peptides Ang- (1-7), produits par ECA2, sont également situés dans plusieurs compartiments ovariens et peuvent être quantifiés dans le liquide folliculaire. Les gonadotrophines induisent des modifications de l'expression ovarienne des récepteurs ECA2, Ang- (1-7) et du récepteur Mas, ce qui implique que l'ECA2 participe à la physiologie ovarienne sous la médiation de Ang- (1-7) (Pereira *et al.*, 2009).

De plus, en plus de AngII, Ang- (1-7) est devenu un facteur clé dans le contrôle de la déviation du follicule (Ferreira *et al.*, 2011).

Ang- (1–7) et Mas, présents dans les cellules théca-interstitielles, sont capables de stimuler la stéroïdogénèse ovarienne et donc de moduler les fonctions physiologiques de l'ovaire, telles que le développement folliculaire, la stéroïdogénèse, la maturation de l'ovocyte, l'ovulation et l'atrésie (Pan *et al.*, 2013).

L'axe ECA2/Ang (1–7)/Mas a récemment été vérifié pour favoriser la reprise méiotique, qui est fortement régulée par l'hormone lutéinisante, vraisemblablement comme intermédiaire gonadotrophine (Pan *et al.*, 2013).

2.5.2. ECA de testicules

- ECA1

L'ECA1 est exclusivement exprimé dans les spermatides en développement et les spermatozoïdes matures et localisé dans les têtes des spermatides, les corps résiduels et les gouttelettes cytoplasmiques de spermatozoïdes épидидymaires (Pan *et al.*, 2013).

Au cours des différentes phases de la fécondation, le niveau d'expression de l'ECA1 à la surface du sperme diffère, ce qui peut dicter son rôle sur la reproduction. De plus, l'ECA1 présent dans le plasma séminal est sécrété ou éliminé de la prostate et de l'épididyme (Pan *et al.*, 2013).

Au cours de la capacitation, les membranes des spermatozoïdes sont modifiées par les protéines épидидymales situées à leur surface, ce qui est une étape cruciale pour la réussite des interactions sperme-ovule. Au cours du passage épидидymal, l'ECA1 minimise la motilité des spermatozoïdes en facilitant la translocation de ADAM3 (Figure 10). En plus de son rôle important dans la capacitation, il a également été démontré que l'ECA1 participait à la fusion ovule-sperme (Pan *et al.*, 2013).

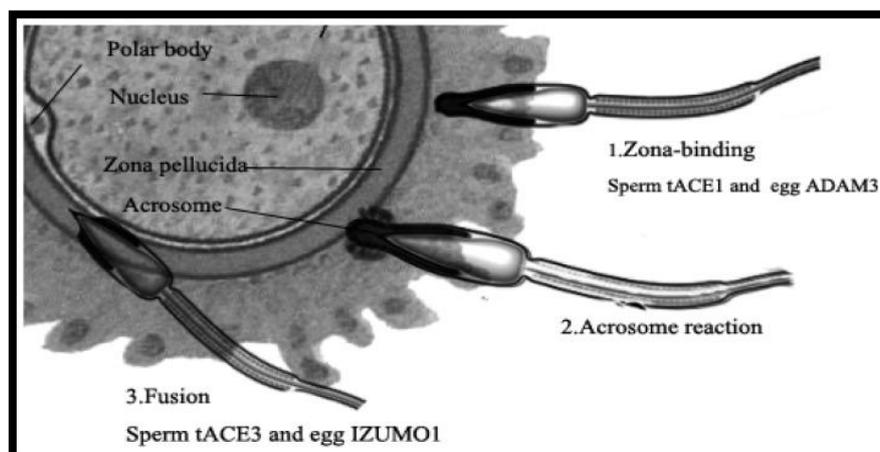


Figure 8 : Mécanisme d'interaction sperme-ovule (Pan *et al.*, 2013)

- ECA2

Dans l'appareil reproducteur masculin, l'ECA2 est exprimée par les cellules de Leydig adultes dans le testicule. De plus, l'Ang- (1-7) et son récepteur Mas ont également été détectés dans les testicules, et ceux-ci sont principalement situés dans le compartiment interstitiel et le cytoplasme des cellules de Leydig (Pan *et al.*, 2013).

Les humains souffrant de troubles graves de la spermatogenèse présentent des taux inférieurs d'ECA2, d'Ang (1-7) et de Mas par rapport aux sujets fertiles. Il est suggéré que L'ECA2 participe à la modulation de la spermatogenèse (Pan *et al.*, 2013).

- ECA3

Contrairement à ECA1 et ECA2, ECA3 n'est pas largement distribué. L'ECA3 n'est détecté que dans le cœur, les testicules et les embryons. Chez l'homme, l'ECA3 contient un motif typique de liaison au zinc (HEMGH) similaire à celui de l'ECA1. Cependant, aucune preuve n'a été trouvée que le gène *ECA3* est exprimé, ce qui indique que l'ECA3 est un pseudogène chez l'homme (Rella *et al.*, 2007).

De la même manière que l'ECA1, l'ECA3 est une protéine associée à IZUMO1 (Figure 10). IZUMO1, une nouvelle protéine spécifique au sperme avec des facteurs essentiels, se situe dans les fusions sperme-œuf (Inoue *et al.*, 2005).

2.6.Lien entre le polymorphisme de l'ECA et l'infertilité

Chez les femmes, le SOPK est un trouble de l'ovulation qui provoque une altération de la fécondité. Les études génétiques démontrent en outre que les polymorphismes chez *ECA1* sont liés aux facteurs de risque du SOPK (Pan *et al.*, 2013).

Jia et son équipe ont proposé que les polymorphismes d'insertion/suppression (I/D) d'*ECA1* soient associés à un risque accru de SOPK (Jia *et al.*, 2012). L'allèle D, présent chez environ 55% de la population, est associé à une augmentation de l'activité de l'ECA1. Une étude a également suggéré que le génotype *ECA1* DD est lié à une augmentation de la résistance à l'insuline (RI) chez les femmes atteintes de SOPK (Pan *et al.*, 2013).

En outre, le SOPK est une maladie commune et complexe présentant des caractéristiques communes d'hyperinsulinémie et de RI. Outre son effet sur l'obésité et le diabète, une signalisation anormale de l'insuline a également été associée à des issues défavorables de la grossesse, car elle affecte l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique de la femme (Pan *et al.*, 2013).

Chez les hommes en surpoids, une probabilité accrue de troubles du sperme (oligozoospermie ou azoospermie) et d'infertilité masculine (Sermondade *et al.*, 2012).

Riera-Fortuny et al. ont trouvé que le type et le grade de l'obésité étaient en corrélation avec les génotypes du polymorphisme I/D du gène *ECA1* chez les sujets atteints de maladie coronarienne (Riera-Fortuny *et al.*, 2005).

Il existe une corrélation significative entre l'hypertension et un ADN de sperme plus fragmenté (anormal), l'hypothèse étant que l'hypertension altère le statut vasculaire en améliorant la génération d'espèces réactives de l'oxygène et la défense anti-oxydante limitée dans les testicules. De plus, les dérivés réactifs de l'oxygène (DRO) sont sous la réglementation de *ECA1* et *ECA2*, activés par *ECA1* et atténués par *ECA2* (Pan *et al.*, 2013).

3. Autres gènes candidats associés à l'infertilité

La fonction de reproduction est contrôlée par de nombreux processus et gènes faisant d'elle une fonction génétiquement contrôlée.

L'évaluation de la fertilité chez les hommes est basée sur la concentration des spermatozoïdes dans le sperme. La production correcte de ces cellules (spermatozoïdes) a été attribuée à plus de 1666 gènes. Un défaut de l'un de ces gènes peut affecter le développement des cellules germinales. En effet, les causes génétiques actuellement bien établies : les anomalies chromosomiques (autosomiques ou gonosomiques) détectées dans 1,9% à 12% des cas infertiles, les microdélétions du chromosome Y dans 8,2% des cas et les mutations du gène *CFTR* dans 2% des cas (Coutton *et al.*, 2012) (Annexe III).

Cependant, les causes génétiques de la stérilité féminine peuvent atteindre soit le nombre de chromosomes comme dans les monosomies (syndrome de Turner 45,X0), ou les polysomies, soit la structure des chromosomes, comme dans les translocations ou les délétions. On estime que 10% des femmes stériles présentent des gamètes génétiquement déséquilibrés induisant une mortalité précoce des embryons de plus de 8 semaines dans 50% des cas (Christin-Maître, 2010) (Annexe IV, V et VI).

IV. Diagnostic : les examens de fertilité

1. Bilan clinique de l'infertilité

Chacun des partenaires d'un couple essayant sans succès d'avoir un enfant depuis plus d'un an de rapports réguliers non protégés doit être exploré et avoir un bilan comportant un interrogatoire complet, un examen clinique et des examens complémentaires détaillés plus loin (Zorn et Savale, 2005).

1.1. Interrogatoire médical

C'est une étape fondamentale du diagnostic car l'interrogatoire fournit la moitié des éléments d'orientation lorsqu'il est conduit avec attention (Khallouk *et al.*, 2010).

Pour cela, le médecin recherche l'existence de facteurs favorisant l'infertilité féminine ou masculine :

- **L'âge** : c'est surtout l'âge de la femme qui importe.
- **Les antécédents médicaux et chirurgicaux** : pouvant avoir un impact sur la fertilité (antécédents d'infections génitales, de chirurgie pelvienne, etc.) ;
- **L'existence d'une maladie chronique actuelle** (diabète...) ;
- **Les antécédents familiaux** : L'existence d'une maladie génétique ou d'une difficulté à concevoir un enfant chez des parents proches ;
- **Le mode de vie** : le travail, l'environnement, le tabagisme et les addictions ;
- **La vie sexuelle** : date d'arrêt de la contraception et pratiques sexuelles (fréquence et régularité des rapports, troubles de la libido...).

1.2. Examen clinique

1.2.1. Chez la femme

L'examen de la femme est un bilan gynécologique habituel. Il comprend entre autre :

- la mesure du poids ;
- un toucher vaginal ;
- un frottis vaginal ;
- un examen de la pilosité (présence d'un hirsutisme) ;
- une palpation des seins ;
- un examen au spéculum.

1.2.2. Chez l'homme

L'examen clinique chez l'homme est essentiel et il consiste à noter :

- ✓ le morphotype ;
- ✓ la pilosité ;
- ✓ l'examen des bourses pour palper les testicules, les canaux déférents et rechercher une varicocèle...

1.3. Bilan d'infertilité

1.3.1. Chez la femme

Certains examens de première intention seront réalisés systématiquement au cours de ce bilan, comme l'évaluation de la réserve ovarienne par le bilan hormonal et l'échographie, et l'exploration de la perméabilité tubaire par l'hystérosalpingographie (HSG) (Copin *et al.*, 2011).

- Bilan hormonal

Le bilan hormonal est pratiqué au début du cycle menstruel (J2-J3 du cycle) et comprend le dosage plasmatique de FSH, de LH et d'œstradiol complété par l'AMH si la réserve ovarienne est diminuée. La prolactine est également dosée selon des conditions strictes de prélèvements. En cas de signes cliniques de dysthyroïdie, un dosage de thyroïdostimuline (TSH) est effectué (Copin *et al.*, 2011).

- Echographie de l'utérus et des ovaires

L'échographie permet d'obtenir des renseignements sur la morphologie utérine (myomes intra-muraux, adénomyose), la présence et la morphologie des ovaires (kystes), l'existence des masses latéro-utérine (hydrosalpinx) (Copin *et al.*, 2011).

- Hystérosalpingographie (HSG)

L'hystérosalpingographie est un examen essentiel irremplaçable pour l'exploration de l'utérus et surtout des trompes. Il permet de dépister des anomalies dans la cavité utérine (polypes, fibromes, synéchie, cloison, malformation) et d'apprécier la perméabilité tubaire (Olivennes *et al.*, 2006).

- Autres examens

- Bilan immunologique ;
- Caryotype ;
- Echo doppler ;
- Hystérocopie ;
- Biopsie de l'endomètre ;

- Ceolioscopie.

1.3.2. Chez l'homme

- Le spermogramme

Le spermogramme tient la première place dans le bilan d'infertilité du couple et permet d'orienter vers une origine masculine à cette infertilité (Guerin, 2001).

- Spermoculture

La spermoculture doit être demandée en cas, de leucospermie (>1 million de leucocytes/ml, en particulier des polynucléaires), de pH basique, d'hyperspermie d'asthéo-tératozoospermie. De même, un contexte clinique évocateur d'une infection uro-génitale doit conduire à la prescription d'une spermoculture par recherche complète de germes (Guerin, 2001 ; Schlosser *et al.*, 2006).

- Bilan hormonal

Les dosages de la testostéronémie matinale et de la FSH plasmatique permettent de classer en première intention les oligozoospermies et les azoospermies en hypogonadotrophiques, normogonadotrophiques et hypergonadotrophiques (Schlosser *et al.*, 2006).

Les dosages de l'LH et de la prolactinémie sont indiqués en cas de baisse de la testostéronémie avec une FSH normale ou diminuée. Elle fait rechercher une cause médicamenteuse, une hypothyroïdie et une anomalie morphologique de l'axe pituitaire. Le dosage de l'inhibine B, corrélé à la spermatogenèse intratesticulaire, a essentiellement une valeur pronostique avant biopsie testiculaire pour évaluer les possibilités d'extraction de spermatozoïdes (Schlosser *et al.*, 2006).

Le dosage de la testostérone explore la fonction endocrine du testicule. Une diminution conjointe de la testostérone et des gonadotrophines, est en faveur d'une insuffisance gonadotrope (l'hypogonadisme, avec impubérisme ou de troubles de la virilisation). Une diminution de la testostérone avec augmentation des gonadotrophines signe une résistance périphérique aux gonadotrophines (Guerin, 2001).

- Bilan génétique

Le bilan génétique permet d'établir un conseil génétique, lorsqu'on envisage une ICSI. La réalisation d'un caryotype sur leucocytes périphériques est indiquée en cas d'oligozoospermie sévère (< 10 millions/ml) ou de signes cliniques évoquant une anomalie chromosomique (Schlosser *et al.*, 2006).

- **Autres examens paracliniques**

- Echographie de l'appareil génital ;
- Biochimie du liquide séminal ;
- Biopsies testiculaires ;
- Test de fragmentation de l'ADN ;
- Test de Migration de Survie (TMS);
- Tests Leukocytospermia (quantification des leucocytes séminaux).

1.3.3. Chez le couple

En cas de prise en charge en AMP, la loi de bioéthique impose la prescription d'un bilan infectieux pour les deux membres du couple, et suivant les résultats de ce bilan d'infertilité, le médecin orientera le couple vers la technique d'assistance médicale à la procréation (AMP) la plus adaptée (Ludovic, 2018). Le bilan vise à rechercher :

- une contamination par le virus du sida (VIH).
- une contamination par le virus de l'hépatite.
- une syphilis.
- une rubéole.
- une toxoplasmose (chez la femme).
- une infection à cytomégalovirus (CMV).

Méthodologie

I. Patients et témoins

1. Recrutement des patients

50 couples candidats pour IAC sont inclus dans cette étude, recrutés au niveau de l'Établissement Public Hospitalier (EHP) mère-enfant de Sidi-Mabrouk, service de gynécologie obstétrique et d'assistance médicale à la procréation, Constantine. L'étude s'est étendue du mois de Mars au mois d'Avril 2019. La sélection de ces couples a été faite en respectant des critères bien définis.

1.1.Critères d'inclusion

Un ensemble de critères d'inclusion a été retenu pour notre cohorte, à savoir :

- les couples reçues en consultation chez lesquels le diagnostic d'infertilité (primaire, secondaire ou idiopathique) a été posé.
- les couples programmés pour une IAC.

1.2.Critères d'exclusion

Nous avons exclu de cette étude les couples pour lesquels les données hormonales, spermatiques ou cliniques étaient insuffisamment renseignées.

2. Recrutement des témoins

Les témoins sont recrutés à partir d'une population prise au hasard, supposée saine, leurs âges s'échelonnent de 25 à 50 ans pour les femmes et de 22 à 78 ans pour les hommes, leurs ADN constituent un pool stocké au sein du laboratoire de biologie et génétique moléculaire. Nous avons recruté 55 témoins des deux sexes (33 hommes et 22 femmes) qui n'ont pas des antécédents personnels d'infertilité.

3. Collecte des données

La méthodologie la plus fréquemment utilisée pour se documenter sur certaines données sociodémographiques, ainsi que l'évolution et les circonstances de diagnostic de la maladie est l'enquête, par le biais d'un questionnaire (Annexe VII) et en se référant au dossier médical.

- Dossier médical : il sert de support à toutes les informations concernant l'histoire de la maladie, les circonstances de diagnostics ainsi que l'état biologique et clinique.
- Questionnaire : l'enquête a été réalisée auprès de chaque sujet au cours d'un entretien privé pendant au moins 15 minutes.

Le couple a bénéficié d'un prélèvement sanguin sur deux tubes d'EDTA (Éthylène Diamine Tétra Acétique), après avoir reçu des explications sur les procédures et les objectifs de l'étude, et après avoir signé un consentement éclairé (Annexe VIII).

II. Méthodes expérimentales

1. Examen biologique

Les examens biologiques pratiqués dans cette étude ont été réalisés au niveau du laboratoire d'analyse médicale du centre d'AMP. Ils comportent le spermogramme et le spermocytogramme ainsi que la préparation du sperme pour l'IAC.

1.1.Spermogramme

Le spermogramme est l'examen clé qui permet une appréciation quantitative et qualitative du sperme. Il permet une double analyse :

- L'évaluation de l'activité sécrétoire à travers la mesure du volume, de pH et de la viscosité ;
- La production gamétique à travers la numération, mobilité et la vitalité du sperme.

1.1.1. Examen macroscopique

L'examen macroscopique permet d'évaluer un certain nombre de paramètres :

- **Liquéfaction** : Dès sa réception, l'échantillon de sperme est déposé dans une étuve à 37°C pendant 30 minutes pour assurer sa liquéfaction. Au terme de celle-ci, l'examen est réalisé. Une liquéfaction prolongée doit être notée si l'éjaculat ne se liquéfie pas après ce délai.
- **Couleur** : L'observation de la couleur est faite à l'œil nu. Un sperme normal a un aspect homogène gris opalescent, et peut prendre une couleur brune en cas d'hémospemie ou jaunâtre qui témoigne une probable infection.
- **Odeur** : On utilise notre propre odorat pour déterminer ce paramètre. À l'état normal le sperme a une odeur caractéristique chlorée, alors qu'en cas d'infection l'odeur du sperme peut devenir fétide.
- **Viscosité** : Elle est évaluée en plongeant une pipette Pasteur dans le sperme, en notant la façon dont le sperme s'écoule. Un sperme d'une viscosité normale, s'écoule sous forme de gouttes bien séparées alors qu'un sperme de forte viscosité forme des filaments de plus de 2 cm entre chaque goutte.
- **Volume** : Il est estimé à l'aide d'une éprouvette graduée, la mesure est faite à 0,1

ml prés. Un volume normal se situe entre 2 à 6 ml, au dessous de 2 ml on note une hypospermie et en dessus de 6 ml on parle d'une hyperspermie. En cas d'absence d'éjaculat on note une aspermie.

- **pH** : Une goutte de sperme est déposée sur une bandelette de papier pH, la couleur de la zone imprégnée est comparée à une échelle de lecture. Le pH est mesuré dans l'heure qui suit l'éjaculation, il est normalement compris entre 7,2 et 8.

1.1.2. Examen microscopique

L'analyse microscopique est réalisée après préparation des échantillons en fonction du paramètre à apprécier.

- **Mobilité et qualité du mouvement** : Une goutte de sperme (20 μ l) bien homogénéisée est déposée entre une lame et une lamelle. Plusieurs champs sont observés au grossissement (40X) et le mouvement de chaque spermatozoïde rencontré est analysé puis classé selon 3 formes (Jouannet, 1977).

Les spermatozoïdes traversant le champ microscopique suivant un trajet régulier, rapide et progressif sont considérés comme forme à mobilité normale ;

Les spermatozoïdes ondulant sur place ou traversant lentement le champ ou présentant un trajet irrégulier sont considérés comme formes à mobilité diminuée ; Si aucun mouvement n'est observé, les spermatozoïdes sont considérés comme formes immobiles.

Quatre à six champs sont parcourus pour classer 100 spermatozoïdes consécutifs et calculer leur pourcentage respectif dans chacune des formes. Selon les normes plus de 50% de spermatozoïdes doivent présenter une progression rapide rectiligne. On dessous de cette valeur, on parlera d'une asthénospermie.

- **Appréciation de l'agglutination** : Sur la lame précédemment préparée, plusieurs champs microscopiques consécutifs sont parcourus pour apprécier la présence ou non d'agglutinats spontanés de spermatozoïdes entre eux par la tête, la pièce intermédiaire ou bien le flagelle. En fonction de l'appréciation, l'auto-agglutination est notée à l'aide de crois, (+) nombre réduit, (++) plus ou moins important, (+++) important. Un sperme normal ne contient pas d'agglutinats spontanés de spermatozoïdes.
- **Numération des spermatozoïdes** : La numération des spermatozoïdes est évaluée en nombre de spermatozoïdes par ml compté dans un hémocytomètre après immobilisation. Dans un tube à hémolyse, le liquide spermatique est dilué au 1/10

Méthodologie

(0.1 ml de liquide spermatique et 0.9 ml de solution de Ringer formolé). La solution est par la suite homogénéisée puis introduite par capillarité à l'aide d'une pipette Pasteur dans le compartiment de la cellule (entre une lamelle calibrée et le support de la cellule de Thoma). Après 10 minutes de repos, la lecture est réalisée par comptage des spermatozoïdes sur chaque grille, sous un microscope optique au grossissement (40X). Le calcul de la concentration des spermatozoïdes, exprimée en millions/ml est obtenu par la formule suivante :

$$\text{Concentration} = N^{\text{bre}} \text{ de spermatozoïde} \times \text{Dilution} \times \text{Volume} \times 1000$$

- **Concentration des cellules rondes** : Elle est mesurée à l'état frais à l'aide d'un hémocytomètre. La concentration en cellules rondes d'un éjaculat normal n'excède pas 10^6 cellules/ml (inférieure à 5% de la concentration totale des spermatozoïdes).
- **Vitalité (coloration Éosine-Nigrosine)** : Le test de viabilité est évalué par la coloration Éosine-Nigrosine. Ce test permet d'estimer la nécospermie par la recherche des spermatozoïdes morts et vivants sur des frottis spermatiques.

Une goutte de sperme est mélangée à 2 gouttes d'Éosine à 1% dans un tube à hémolyse. Après 30 secondes, on ajoute 2 gouttes de Nigrosine à 10%. Le frottis est préparé à partir d'une goutte de mélange déposée sur une lame, puis laissée sécher à l'air libre.

La lecture est faite sous un microscope optique, au grossissement (40X). Ainsi, les spermatozoïdes morts apparaissent colorés en rose, alors que les spermatozoïdes vivants sont incolores. 100 spermatozoïdes sont comptés sur plusieurs champs consécutifs et le pourcentage des spermatozoïdes morts ainsi le pourcentage des spermatozoïdes vivants sont déterminés.

Un sperme normal contient plus de 75% de formes vivantes. Au dessous de 50% de cellules vivantes, on parle d'une nécospermie.

1.2.Spermocyto-culture

Le spermocytogramme est une analyse morphologique des spermatozoïdes. Il est déterminé par une coloration simple de Papanicolaou sur un frottis spermatique (Annexe IX).

Le pourcentage des formes typiques et atypiques est dénombré selon la classification de David (1975). Un spermocytogramme est considéré normal quand il comporte plus de 50 %

de spermatozoïdes normaux, en dessous de cette valeur on parle d'une tératozoospermie. La préparation des frottis est décrite comme suit :

- on met 10 µl de sperme liquéfié et homogénéisé sur une lame propre ;
- on tire la goutte de sperme à l'aide d'une autre lame et laisser les frottis sécher dans l'air ;
- on fixe les frottis dans l'alcool éther pendant 5 à 15 minutes et laisser sécher à l'air
- on colore les lames en utilisant la méthode de coloration de Papanicolaou ;
- on monte les lames.

La lecture de la morphologie est effectuée sur 100 spermatozoïdes au grossissement à l'immersion (100X). Nous avons utilisé la classification de David établie en 1975 (annexe X) qui recense :

- Sept anomalies de la tête :

Tête allongée : le grand axe est plus long que la normale et le petit axe présente une longueur normale ;

Tête amincie : le petit axe a une longueur plus petite que la normale et le grand axe présente une longueur normale ;

Tête microcéphale : le grand axe et le petit axe sont plus petits que la normale ;

Tête macrocéphale : le grand axe et le petit axe sont plus grands que la normale ;

Tête multiple : plus d'une tête par spermatozoïdes ;

Tête à acrosome anormal ou absent : l'acrosome normal occupe 40-70 % de la surface de l'acrosome. L'acrosome normal joue un rôle important dans l'interaction des spermatozoïdes avec l'ovocyte ;

Tête présentant une base (région post-acrosomique) anormale: cette anomalie correspond à un défaut de la morphogenèse de la tête et ou du noyau dans sa partie distale.

- Trois anomalies de la pièce intermédiaire :

Le reste cytoplasmique: est considéré comme anomalie s'il y a une surface supérieure au tiers de la surface d'une tête normale. Il se situe à la jonction de tête à la pièce intermédiaire ;

Pièce intermédiaire grêle: correspond à une gaine mitochondriale qui ne s'est pas constituée ;

Pièce intermédiaire enroulée: la pièce intermédiaire et l'axe de la tête forment un angle net ;

- Cinq anomalies du flagelle :

Flagelle absent : ou la pièce connective est rudimentaire ;

Flagelle court : flagelle inférieur a cinq fois la longueur de la tête ;

Flagelle irrégulier : quand le diamètre du flagelle est variable, présentant des rétrécissements

ou élargissement ;

Flagelle enroulé : flagelle enroulé autour de la tête ou en dehors de la tête ;

Flagelle multiple : il y a plus d'un flagelle par spermatozoïde, la pièce intermédiaire étant commune ou multiple.

1.3. Insémination artificielle intra-utérine avec sperme du conjoint (IAC)

Le couple qui a des problèmes de fertilité se voit proposer différents examens qui ont pour but de préciser le diagnostic. Différentes approches thérapeutiques peuvent ensuite être envisagées, notamment le recours à certaines techniques. Ces techniques comprennent l'insémination intra-utérine (IIU /IAC), la fécondation *in vitro* (FIV) et l'injection intracytoplasmique de spermatozoïdes (ICSI).

Dans l'unité d'AMP, il n'y a que l'IAC qui consiste à déposer le sperme préalablement préparé au laboratoire dans la cavité utérine, au moyen d'un cathéter.

1.3.1. Stimulation ovarienne

Un traitement de stimulation préalable est prescrit à la femme afin d'obtenir le développement de follicules; Les patientes ont subi le traitement hormonal suivant :

- Les sécrétions hormonales des patientes ont été bloquées par un analogue agoniste de GnRH selon un protocole court ou long. Si le protocole est long l'injection de l'agoniste de GnRH se fait soit à raison de 3,75 mg dans le 21ème jour du cycle soit à raison de 0,1 mg pendant 14 jours à partir de 21ème jour du cycle. Si le protocole est court l'injection se fait à partir du 2ème jour du cycle.
- La stimulation ovarienne est réalisée par une FSH recombinante 15 jours après l'injection de l'agoniste de GnRH dans le protocole long et dans le 3ème jour du cycle dans le protocole court
- La surveillance de stimulation est réalisée à partir du 8ème jour par l'échographie
- Lorsque le follicule atteint au moins 18 mm de diamètre, l'ovulation est déclenchée par un hCG recombinant.

1.3.2. Préparation du sperme en vue de l'insémination

Les principales méthodes de préparation : la méthode des gradients de densité, le simple lavage et la méthode de la migration ascendante (*Swim up*). La méthode des gradients de densité est la technique de choix dans la plupart des laboratoires, ce qu'est le cas dans le laboratoire du centre d'AMP.

Méthodologie

Cette méthode consiste à déposer l'éjaculat dans une colonne à gradient de densité. Les cellules se séparent suivant leur densité en traversant des couches discontinues de densité croissante, composées de silice colloïdale revêtue de silane (gradient). À la fin de la centrifugation, chaque spermatozoïde se trouve au niveau du tube correspondant à sa densité. Les spermatozoïdes mobiles et normaux sont généralement plus denses que les spermatozoïdes anormaux.

La figure 11 résume les étapes décrites ci-dessous. Le recueil du sperme est réalisé le jour des inséminations par masturbation. Il s'effectue après un délai d'abstinence sexuelle (absence d'éjaculation) compris entre 3 et 5 jours.

Étape 1 - Préparation du tube

- Tube de gradient : Avec des pipettes sérologiques stériles, 1 ml de solution de PureSperm[®] 80% (Annexe XI) est déposé dans le fond d'un tube conique gradué, puis déposer délicatement 1 ml de solution PureSperm[®] 40% (Annexe XI) par-dessus en évitant de mélanger les deux solutions. Le tube à gradient bicouche reste stable durant une certaine période.
- Tube de lavage (en vue de l'étape 5) : Avec une pipette sérologique stérile, 5 ml de solution de lavage de PureSperm[®] Wash (Annexe XI) sont ajoutés à un tube stérile prévu pour cet usage.

Étape 2: Ajout du sperme

Tout l'éjaculat est versé dans le tube de gradient. Le sperme peut flotter à la surface de la solution pendant quelques minutes. Si le volume de sperme est plus grand que 1 ml (ou égal au volume de la couche supérieure), on peut le déposer sur deux tubes de gradient (ou plus). On réunira ensuite les culots de ces tubes dans un seul et même tube de lavage.

Étape 3: Première centrifugation

Le tube de gradient est centrifugé pendant 20 minutes à une force allant de 300 à 400 g.

Étape 4 : Aspiration du surnageant

Après la centrifugation, le surnageant est aspiré avec une pipette sérologique stérile jusqu'à quelques millimètres au-dessus du culot. Ensuite, tout le culot est aspiré avec une pipette Pasteur stérile.

Étape 5 : Transfert du culot dans le tube de lavage

Délicatement le culot est déposé à la surface de la solution de lavage. Le tube est bouché et mélangé délicatement.

Étape 6 : Deuxième centrifugation

Le tube de lavage est centrifugé pendant 10 minutes à une force allant de 300 à 500 g.

Étape 7 : Élimination du surnageant

Le surnageant est retiré avec une pipette sérologique stérile en allant le plus près possible du culot.

Étape 8 : Ajout de la solution de lavage

Solution de lavage est ajoutée pour obtenir un volume final de 0,5 ml.

Étape 9 : Transfert du culot

Avec une nouvelle pipette Pasteur stérile, culot est homogénéisé et le déposé dans un tube stérile de 5 ml portant le nom du patient et une goutte est déposée sur la chambre de comptage en vue de l'évaluation du sperme après sa séparation dans le tube de gradient.

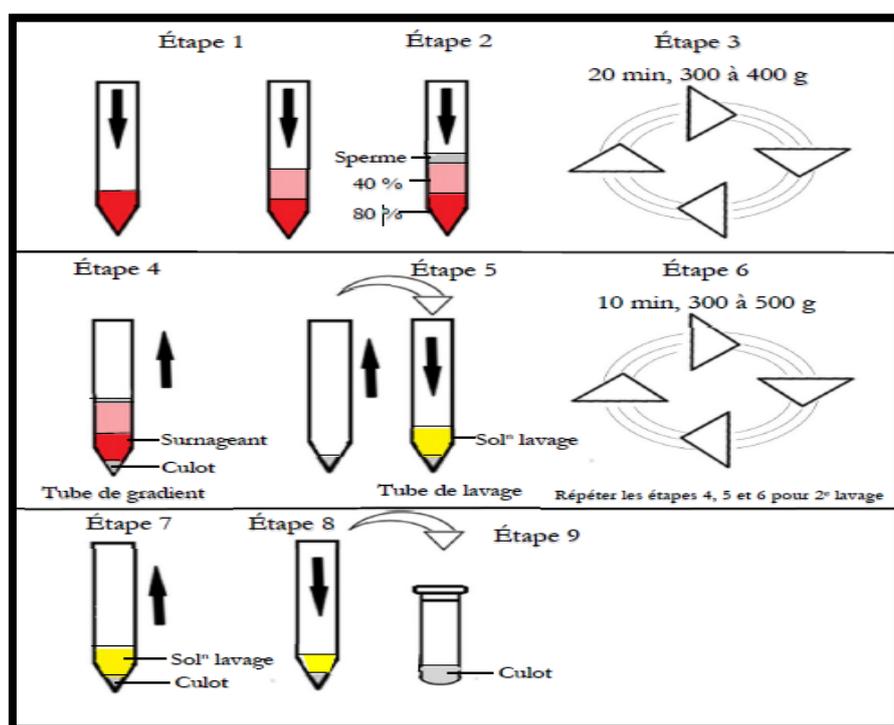


Figure 9 : Préparation du sperme par la méthode des gradients

1.3.3. Insémination proprement dit

- Avant toute mise en œuvre d'une IAC, les sérologies VIH, syphilis, hépatites B et C sont réalisées chez les deux membres du couple.
- L'insémination devra être réalisée 36 à 37 heures après l'injection d'hCG (provoquant l'ovulation), Le médecin, à l'aide d'un fin cathéter, faire une injection lente du sperme préparé à l'intérieur de l'utérus suivie d'une dizaine de minutes de repos.
- La fécondation se fait selon le processus naturel « in vivo ».

2. Etude moléculaire

Notre étude moléculaire s'est effectuée selon deux étapes : une étape d'extraction de l'ADN au niveau du laboratoire de recherche Biologie et Génétique Moléculaire du CHU Ben Badis, Constantine suivie d'une PCR directe (*polymerase chain reaction*) pour la recherche du polymorphisme I/D du gène de l'ECA au niveau du laboratoire de biologie et génétique moléculaire de l'université de frère mentouri constantine 1 .

2.1.Extraction d'ADN

2.1.1. Prélèvement sanguin

Le prélèvement sanguin est recueilli dans des conditions stériles par ponction veineuse, dans un tube vacutainer contenant de l'EDTA comme anticoagulant, en quantité de 5 à 10 ml. L'EDTA est un chélateur de cations bivalents (Mg^{++} , Ca^{++}) nécessaires au fonctionnement des ADNase. Il est donc utilisé également comme inhibiteur indirect des nucléases. L'extraction de l'ADN est lancée immédiatement ou, si les conditions ne le permettent pas, dans les 3 à 5 jours qui suivent le prélèvement conservé à $+4^{\circ}C$.

2.1.2. Principe de l'extraction d'ADN

L'extraction d'ADN consiste en l'isolement de leucocytes du sang total par une lyse hypotonique des globules rouge, ils sont ensuite traités par un détergent Sodium dodécyle sulfate (SDS), qui possède une action lytique sur les membranes cellulaires, il inhibe les nucléases et dénature les protéines par destruction de leur structure tertiaire, ainsi qu'une protéinase K, qui dénature et dégrade les protéines.

L'ADN nucléaire sera libéré des différentes protéines ainsi digérées et éliminées par précipitation au NaCl. Le surnagent récupéré est traité par de l'éthanol pur, une pelote d'ADN est formée. L'ADN est solubilisé en phase aqueuse, sa pureté ainsi que sa concentration sont estimés par spectrophotomètre à UV (Annexe XII).

2.2.Génotypage de l'ECA

Le polymorphisme de l'ECA est une Délétion (D) ou une Insertion (I) d'un fragment de 287 pb dans l'intron numéro 16 du gène de l'ECA. La détermination du génotype a été effectuée selon une amplification par PCR suivie d'un contrôle de PCR sur gel d'agarose.

2.2.1. Amplification par la PCR

La PCR est une méthode de la biologie moléculaire. Son principe repose sur la synthèse de multiples copies d'une séquence d'ADN spécifique.

Méthodologie

- Préparation du milieu réactionnel de la PCR

Un milieu réactionnel de PCR ou un mix de PCR d'un volume final de 10 μ l a été préparé. Le mix comprend des désoxyribonucléotides triphosphates (dntp 2 mM), une enzyme d'amplification in vitro (Taq polymérase), un environnement réactionnel (tampon, MgCl₂, H₂O) et deux amorces oligonucléotidiques (Tableau 3).

Tableau 3 : Amorces utilisées pour l'amplification du gène *ECA*

Sens des amorces	Séquence nucléotidique
ECA 1R (Sens)	5'-CTG GAG ACC ACT CCC ATC CTT TCT-3'
ECA 1F (anti sens)	5'-GAT GTG GCC ATC ACA TTC GTC AGAT-3'

Après avoir préparé le mix de la PCR (Tableau 4) selon le nombre d'échantillon, nous avons pris 9 μ l de ce mélange avec 1 μ l d'ADN dans chaque tube de PCR pour chaque sujet.

Tableau 4 : Quantités de chaque constituant du milieu réactionnel de la PCR

Mix de PCR	Quantité en μ l
Tampon 10X	1 μ l
MgCl ₂ (1.5 mM)	0,3 μ l
Dntp (2 mM)	1,6 μ l
ECA 1R (20 pmol/l)	1 μ l
ECA 1F (20 pmol/l)	1 μ l
Taq polymérase (5U/ μ l) Biomatik	0,08 μ l
Eau distillée	4,02 μ l
ADN	1 μ l

- Déroulement des cycles de la PCR

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

Une dénaturation initiale à 95°C pendant 5 minutes, suivie de 37 cycles de PCR, comprenant chacun une dénaturation à 95°C pendant 30 secondes, une hybridation à 60 °C pendant 30 secondes, une élongation à 72°C pendant 30 secondes et enfin une élongation finale à 72°C pendant 4 minutes.

- Préparation du gel d'agarose à 2%

Le contrôle de la PCR s'effectue sur un gel d'agarose à 2%. Le gel est préparé en mélangeant 2g d'agarose et 100 ml du TBE (Annexe XIII) additionné de 10 µl du BET (Bromure d'éthidium) qui est un agent intercalant qui sert à émettre une fluorescence pendant le contrôle de la PCR. Le gel est déposé sur une plaque d'une cuve horizontale ou on a placé un peigne. On laisse le gel se polymériser à l'air libre.

2.2.2. Contrôle des produits de la PCR

Le contrôle de la taille des fragments amplifiés s'effectue par une électrophorèse horizontale sur un gel d'agarose à 2%. Dans chaque puits du gel, nous déposons 10 µl de produit d'amplification en présence de 2 à 3 µl d'un tampon de charge (*DNA Loading Buffer*) permet de suivre le front de migration. Parallèlement un échantillon sans ADN (blanc : témoin), est inclus dans la série à amplifier et sert de control négatif (-). Le dépôt se fait du côté cathode (-), et le système est soumis à une migration sous un courant de 100 volts pendant 45 minutes. Après la migration, le gel est soumis au rayon UV dans un Transilluminateur. Les molécules de bromure d'éthidium 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 blanc.

3. Etude statistique

Les calculs statistiques de toutes les données recueillies ainsi que de tous les paramètres considérés ont été obtenus par logiciel Microsoft Office EXCEL 2007 et par le logiciel Epi info version 6.0.

- Calcul de l'odds ratio

Pour calculer l'odds ratio nous avons établi un tableau de contingence croisé 2×2 (Tableau 6).

Tableau 5 : Tableau de contingence pour le calcul de l'odds ratio

	Patients	Contrôles	Total
Présence du facteur préssumé de risque de maladie (exposés)	a	b	a+b
Absence du facteur préssumé de risque de maladie (non exposés)	c	d	c+d
Total	a+c	b+d	a+b+c+d

Le calcul de l'odds ratio se fait par la formule suivante :

$$\mathbf{OR = a \times d / b \times c}$$

L'odds ratio représente une mesure d'association épidémiologique entre un facteur et une maladie, en particulier lorsque la maladie est rare parmi la population (Prévalence < 5%).

Dans ce cas l'odds ratio peut être une bonne approximation du risque relatif que donnerait une enquête de cohorte de la population.

- *P-value*

Pour tous les calculs, deux groupes de valeurs ont été considérés comme significativement différents si $p < 0,05$.

Résultats
et
Discussion

I. Caractéristiques épidémiologiques des couples

1. Âge

Dans notre étude, la moyenne d'âge chez les hommes est de $39,3 \pm 6,8$ ans avec des extrêmes de 28 ans et 58 ans. Par ailleurs, chez les femmes est de $33,4 \pm 5,67$ ans avec des extrêmes de 21 ans et 45 ans.

La répartition par tranche d'âge révèle que la tranche d'âge la plus représentée chez les deux partenaires est celle de 31 à 41 ans (58% des hommes et 50% des femmes) (Figure 12).

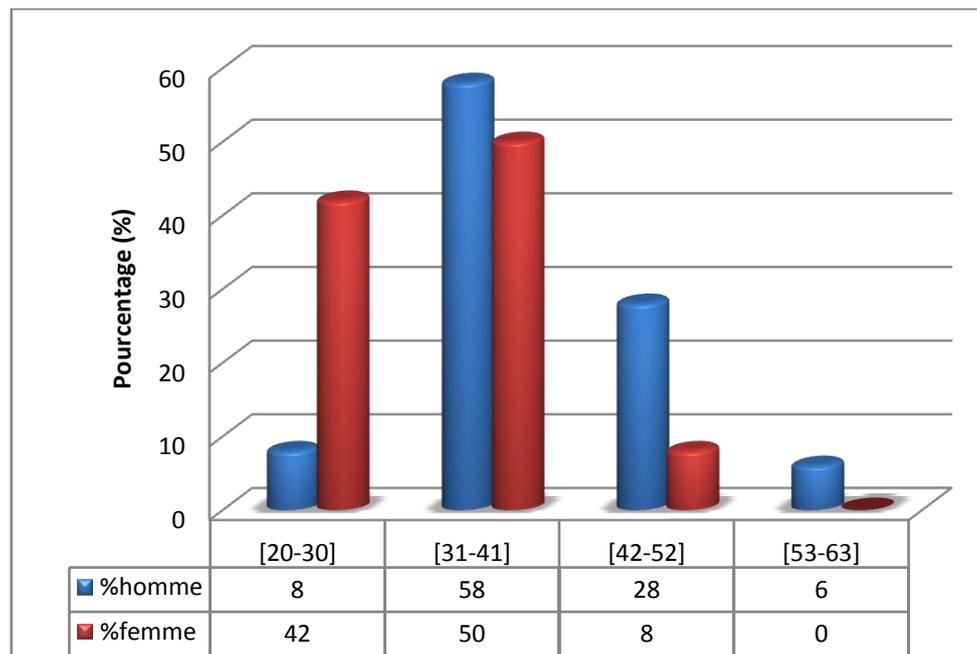


Figure 10 : Répartition des patients selon la tranche d'âge

Ces groupes d'âge se rapprochent de ceux retrouvés par Belmokhtar, où 51,85% des hommes âgés entre 30 et 39 ans avec un âge moyen de 33,9 ans et 60% des femmes dans la même tranche d'âge (Belmokhtar, 2014).

une étude menée par Rezgoune-Challat en 2013, a révélé que la tranche d'âge de 31-41 ans est la plus représentée avec une fréquence de 68,75% ce qui concorde avec nos résultats.

Ceci peut s'expliquer par l'âge du mariage qui est de plus en plus tardif (Chellat *et al.*, 2013).

La fécondabilité naturelle d'un couple est de 25% par cycle à l'âge de 25 ans pour la femme, 12% à 35 ans et seulement 6% à 42 ans. L'âge moyen de la première naissance pour une femme était de 26,7 ans en 1977 et est passée à 29,5 ans en 2000 (Brzakowski *et al.*, 2009). L'impact de l'élévation de l'âge se fait sentir dès 35 ans et devient important à 40 ans et plus (Khoshnood *et al.*, 2008).

Résultats et Discussions

Or l'augmentation de l'âge maternel a des effets marqués surtout sur la baisse de la fécondabilité et sur l'augmentation du risque d'avortements. La baisse de la fertilité avec l'âge s'explique par la diminution avec les années de la réserve ovarienne, de la qualité ovocytaire et de la réceptivité utérine. De plus, la survenue d'une grossesse après 40 ans expose la patiente à une surmortalité importante et des complications gravidiques. Aussi, il existe des risques d'anomalies génétiques non négligeables, comme la trisomie 21 de 0,30% à 30 ans, 1,35% à 40 ans et 2,5% à 42 ans (Brzakowskia *et al.*, 2009).

Par ailleurs, un âge paternel supérieur à 55 ans diminue nettement les chances d'avoir un enfant ou provoque un risque accru d'avoir un enfant anormal. L'âge est responsable d'une altération de la spermatogénèse (Brzakowskia *et al.*, 2009).

La spermatogénèse augmente au cours de la puberté et atteint une phase de plateau à l'âge de 55 ans, et décroît ensuite. Cependant, la dégradation de la fertilité n'est pas un phénomène obligatoire et certains patients conservent pendant très longtemps une fertilité normale (Wagner, 2004).

2. Indice de masse corporelle (IMC)

La répartition de notre population d'étude révèle que 50% des hommes et 42% des femmes se situe dans la catégorie du surpoids ($25 \text{ kg/m}^2 > \text{IMC} < 30 \text{ kg/m}^2$). De plus, des taux relativement élevés pour la catégorie du poids idéal ($18,5 \text{ kg/m}^2 > \text{IMC} < 25 \text{ kg/m}^2$) chez les hommes autant que chez les femmes soit 30% (Figure 13). Nous avons noté aussi qu'il y a une prévalence légèrement plus élevée chez les femmes pour la catégorie ($\text{IMC} \geq 30 \text{ kg/m}^2$) (28% versus hommes 20%).

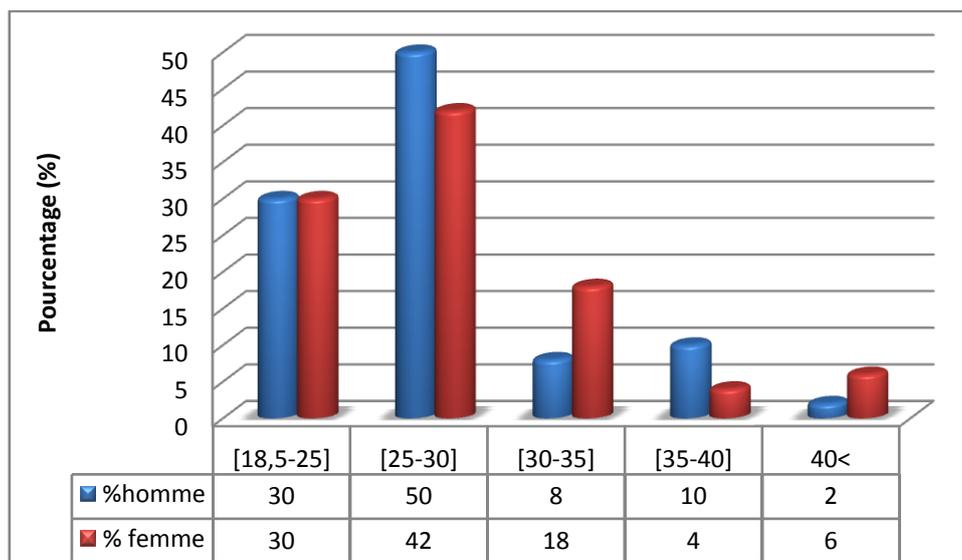


Figure 11 : Classification des patients selon l'indice de masse corporelle

Résultats et Discussions

La répartition des patients selon l'IMC peut être causée par une interaction de facteurs environnementaux, de prédispositions génétiques et de comportements humains.

Ces catégories d'IMC se rapprochent de celle de Hedley et al en 2004, d'où 65,1% ont un surpoids, 30,4% sont obèses et 4,9% sont extrêmement obèses.

L'obésité masculine chez les hommes en âge de procréer a presque triplé au cours des 30 dernières années et coïncide avec une augmentation de l'infertilité masculine dans le monde. L'obésité masculine a un impact négatif sur le potentiel reproducteur masculin, non seulement en réduisant la qualité du sperme, mais en modifiant notamment la structure physique et moléculaire des cellules germinales dans les testicules et en fin de compte le sperme mature (Palmer *et al.*, 2012).

Les hommes souffrant d'embonpoint ou d'obésité présentent souvent un profil altéré des hormones de la reproduction se caractérisant entre autres par un taux diminué de testostérone. Ils sont également plus à risque d'éprouver des problèmes érectiles (Chavarro *et al.*, 2010). Un seul article rapporte qu'un amaigrissement obtenu après régime permettrait d'améliorer la quantité et la qualité des spermatozoïdes. Cependant, un impact négatif de la chirurgie bariatrique sur les paramètres spermatiques a récemment été observé (Sermondade *et al.*, 2012).

Par ailleurs chez la femme, sur le plan gynécologique, l'obésité et le surpoids sont impliqués dans l'infertilité par des troubles ovulatoires, une aggravation des symptômes du syndrome OPK, une augmentation du risque de fausses couches spontanées, une diminution de la qualité ovocytaire et une altération de la réceptivité endométriale (Sarfati *et al.*, 2010).

Egalement, sur le plan obstétrical, l'obésité est associée à un risque accru de complications, de type diabète gestationnel, hypertension artérielle gravidique, pré éclampsie, macrosomie fœtale, hémorragie de la délivrance, et à une augmentation du nombre de déclenchements du travail et d'accouchements par césarienne (Linne, 2004).

Enfin, de façon paradoxale avec l'hypofertilité, un taux de grossesses non désirées quatre fois plus élevé a été mis en évidence chez les femmes obèses en comparaison aux femmes de poids normal (Sarfati *et al.*, 2012).

3. Groupes sanguins

Chez les hommes, nous avons noté que la proportion du groupe O est dominante (62%) suivie du groupe A (30%) puis du groupe B (8%) (Figure 14).

En revanche, chez les femmes, la proportion dominante c'est celle du groupe A (54%) suivie du groupe O (30%) puis du groupe B (16%).

Résultats et Discussions

Le taux du groupe AB est nul (0%) pour toute la population.

En ce qui concerne le système Rhésus, la figure 3 montrent des proportions élevées pour le Rhésus+ chez les hommes et les femmes (98% et 94% respectivement).

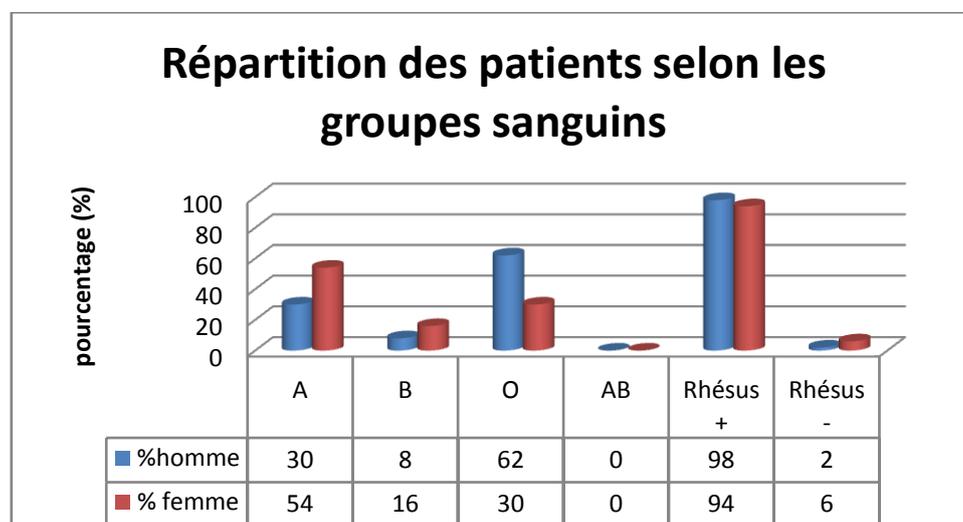


Figure 12 : Répartition des patients selon les phénotypes des systèmes sanguins ABO et Rhésus

Les travaux de Ziani réalisées en 2017 et celle de Deba et al. publiées en 2014 se concordent avec nos résultats.

Des études menées à grande échelle sur la fertilité humaine comprenant plus de 1500 familles de deux villes au Japon, ont démontré que des fréquences plus élevées de couples infertiles et d'avortements spontanés chez des couples incompatibles quant au groupement ABO.

Une autre étude a déclaré qu'il existe des preuves qui suggèrent que les spermatozoïdes portant les groupes de groupes sanguins A ou B ont tendance à être éliminés parce qu'ils sont sérologiquement incompatibles avec l'anticorps Anti-A ou Anti-B trouvés dans la sécrétion cervicale de la mère (Mohanty et Das, 2010).

4. Origine géographique

Les patients qui ont été inclus dans cette étude proviennent de 5 régions géographiques différentes (Centre, Est, Ouest, Littoral méditerranéen, Sud) et de 12 villes de l'Algérie (Tableau 7).

Résultats et Discussions

Tableau 6 : Classification des couples selon les régions et villes d'Algérie

Ville	Nombre de couple	%
Annaba	2	4
BBA	1	2
Biskra	2	4
Constantine	27	54
El Oued	2	4
Khenchla	2	4
Mila	3	6
Oran	1	2
Oum el Bouaghi	5	10
Sétif	3	6
Skikda	1	2
Taref	1	2

Il faut noter que la majorité des couples proviennent de la ville de Constantine avec une fréquence de 54%.

Nous pouvons expliquer ces résultats par le fait que le recrutement a été réalisé au niveau du centre d'AMP de l'EHS en gynécologie obstétrique de Sidi mabrouk (Constantine).

Selon notre enquête, nous avons trouvé que 82% de nos patients sont d'origine urbaine (Figure 15).

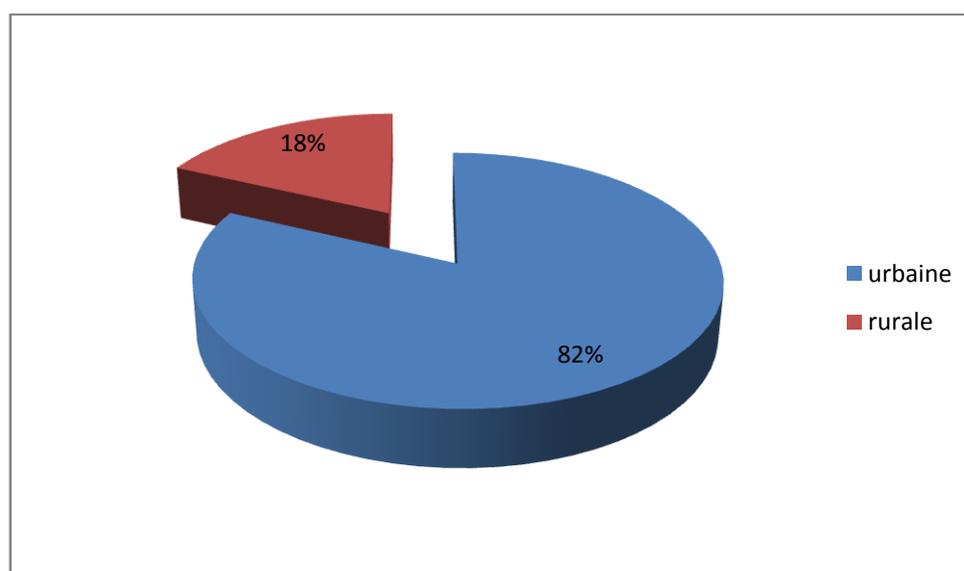


Figure 13 : Classification des couples selon l'origine urbaine ou rurale

Résultats et Discussions

Une étude américaine a montré des différences régionales dans les paramètres du sperme d'hommes féconds et observe une moindre qualité séminale parmi les hommes résidant dans des zones rurales comparés à ceux résidant dans des zones urbaines (Swan *et al.*, 2003a). Les auteurs ont voulu par la suite vérifier l'hypothèse selon laquelle cette différence dans la qualité séminale pouvait être expliquée par une différence d'exposition aux pesticides. L'exposition aux pesticides est estimée par la mesure de la concentration de métabolites de 8 pesticides dans les urines. Parmi les hommes résidant dans des zones rurales, les concentrations urinaires en métabolites provenant de l'alachlore, diazinon et atrazine sont positivement et significativement associées à un risque accru d'être un cas. En revanche, chez les hommes résidant dans des zones urbaines, aucune association n'est constatée (Swan *et al.*, 2003b)..

5. Type d'infertilité

Sur l'ensemble de notre population, 39 couples présentent une infertilité primaire, 10 couples présentent une infertilité primo-secondaire et un seul couple souffre d'une infertilité secondaire, soit des pourcentages respectifs de 78%, 20% et 2% (Figure 16).

Le taux élevé de l'infertilité primaire par rapport au taux des infertilités secondaire et primo-secondaire, peut s'expliquer par le contexte social et la tendance qu'auraient les couples n'ayant pas d'enfant à consulter plus souvent que les autres pour traiter leur infertilité.

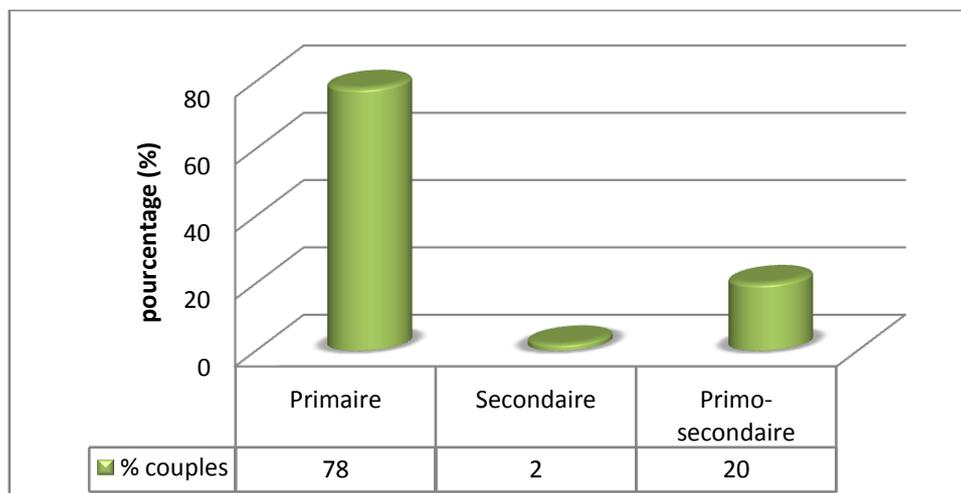


Figure 14 : Répartition des couples selon le type d'infertilité

Des études menées en Algérie, dans la région d'Annaba, indiquent des taux d'infertilité primaire de 73,48% et d'infertilité secondaire de 26,52% (Daroui, 2001).

Dans la même région, l'étude de Nazzal, montre que 87% des cas présentent une infertilité primaire, contre 13% ayant une infertilité secondaire (Nazzal, 2002).

Résultats et Discussions

Par ailleurs, en France, les travaux de Thonneau et ses collaborateurs en 1991 révèlent des taux d'infertilité primaire et secondaire de 67% et 33% respectivement.

II. Données cliniques et biologiques chez l'homme

1. Statut tabagique

D'après notre enquête qui a été réalisé sur le mode de vie des patients, nous avons recensé un taux relativement élevé des fumeurs, il est de 48%. Le taux des non fumeurs est de 44% et d'anciens fumeurs est de 8% (Figure 17).

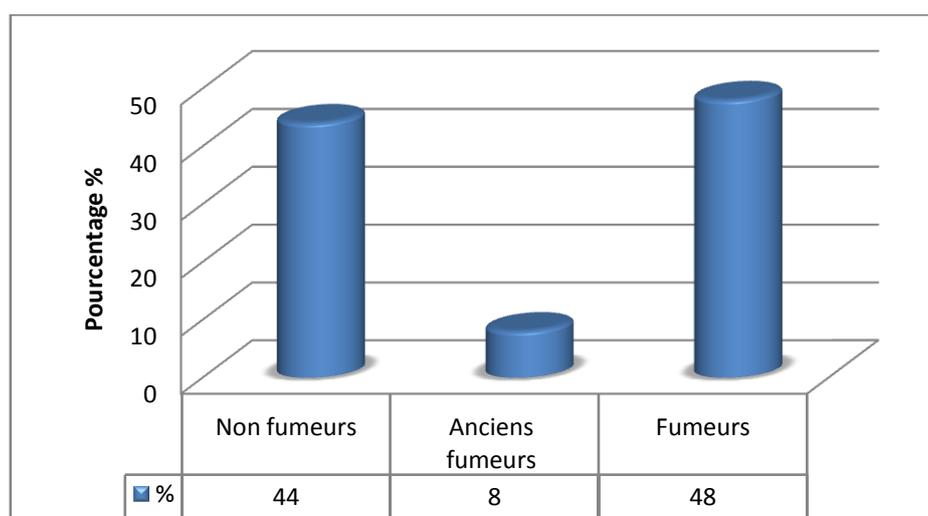


Figure 15 : Classification des hommes selon la consommation du tabac

Les résultats d'Ounis montrent que 52% des cas étudiés ne fument pas contre 43,31% qui sont des fumeurs, ce qui concorde avec nos résultats (Ounis, 2014).

Dans notre société le tabac étant une habitude toxique plutôt masculine, son effet ne peut être prospecté correctement sur les femmes algériennes, cela peut représenter un biais dans notre enquête. De même que la prise de tabac à chiquer n'a pas été évaluée dans notre échantillon.

Dans notre série, le pourcentage des fumeurs peut être expliqué probablement par l'absence de tabagisme dans la population féminine et ou bien un tabagisme inavoué.

Selon une méta-analyse de 27 études portant notamment sur l'association entre le tabagisme et la qualité du sperme, il a été signalé chez les fumeurs une réduction moyenne de la concentration de spermatozoïdes de 13%, de la motilité des spermatozoïdes de 10% et de spermatozoïdes morphologiquement normaux de 3% (Pasqualotto, 2008).

En effet, les composants de la fumée de cigarette passent la barrière hémato testiculaire et entraînent de ce fait une altération des paramètres spermiologiques et de la qualité du noyau des spermatozoïdes. Les mécanismes physiopathologiques en cause ne sont pas encore clairement établis, mais il semble que le stress oxydatif généré par le tabac soit une des

Résultats et Discussions

hypothèses les plus probables. Il en résulte essentiellement une fragmentation de l'ADN qui compromet les chances de grossesse (Sepaniak *et al.*, 2005 ; Sepaniak *et al.*, 2006).

Une étude en microscopie électronique des spermatozoïdes chez 29 fumeurs et 15 non fumeurs a montré que le tabac provoquait des anomalies structurales du flagelle, essentiellement au niveau de l'axonème. Chez les fumeurs, l'anomalie la plus fréquemment isolée est la disparition d'un ou plusieurs doublets périphériques de microtubules, ou du doublet central, entraînant une diminution de la mobilité, voire une immobilité totale. Le tabac entraîne une augmentation de la tératospermie, portant plus particulièrement sur la tête des spermatozoïdes. De telles anomalies sont associées à une augmentation des risques d'infertilité (Sepaniak *et al.*, 2005).

2. Activité professionnelle

La répartition des patients selon l'activité professionnelle, consignée dans le tableau 8, fait ressortir que 6% ne possèdent aucune profession. Parmi la population en activité les commerçants et les fonctionnaires administratifs représentent la proportion la plus élevée, elle est de l'ordre de 28% et 26% respectivement, suivi des ouvriers, des chauffeurs et des agents de sécurité avec des taux respectifs de 10%, 6% et 4% et les autres professions possèdent des pourcentages équivalents (2%).

Tableau 7 : Classification des hommes selon l'activité professionnelle

Profession	Effectif (n)	%
Agent de nettoyage	1	2
Agent de sécurité	2	4
Architecte	1	2
Boulangier	1	2
Chauffeur	3	6
Commerçant	14	28
Fonctionnaire administratif	13	26
Imam	1	2
Mécanicien	1	2
Menuisier	1	2
Opérateur	1	2
Ouvrier	5	10
Plombier	1	2
Policier	1	2
Retraité	1	2
Sans profession	3	6

Résultats et Discussions

Les résultats de Daroui (2001) et Chennaf (2012) ont signalé que les patients sans profession et les boulangés sont les plus touchés par le problème de l'infertilité, ce qui n'est pas le cas dans notre échantillon.

3. Antécédents urogénitaux

Sur les 50 patients, que nous avons recensés au cours de cette étude, la majorité, à savoir 90% d'individus, ne présentent pas d'antécédents uro-génitaux. Par contre pour le reste de la population, la varicocèle apparaît comme principal antécédent urogénital, avec un taux de 10% (Figure 18).

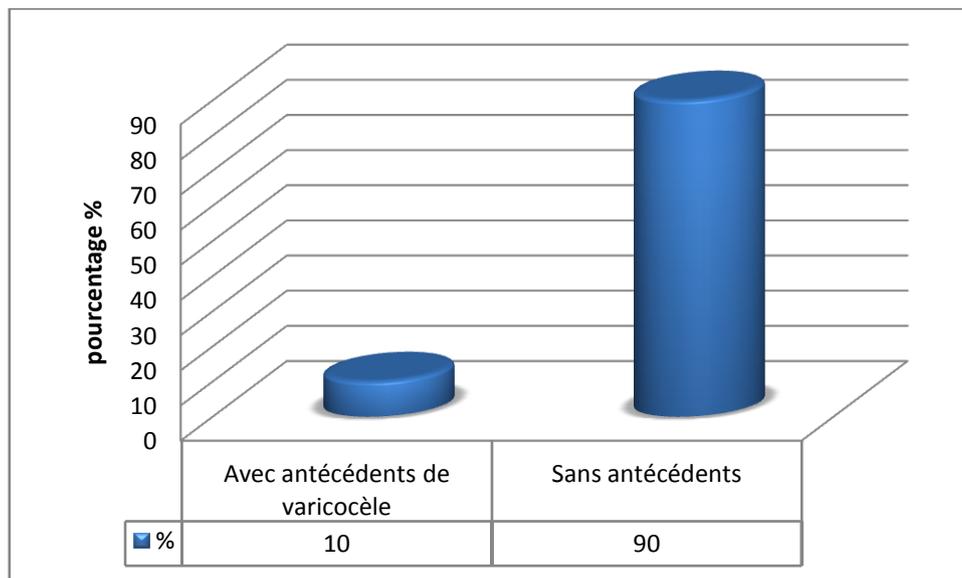


Figure 16 : Répartition des hommes selon les antécédents urogénitaux

Ces valeurs sont comparativement proches de celle trouvées par Ounis, qui a trouvé que 79,2% des patients ne présentent pas d'antécédents urogénitaux. Par contre pour le reste de la population, 20,8% ont des antécédents urogénitaux, avec une prédominance de varicocèle avec 15,8%, suivis des antécédents de problèmes testiculaires 3,5% ainsi que l'hernie inguinale avec 1,5 % (Ounis, 2014).

La fréquence de la varicocèle retrouvée dans notre étude, concorde aux données de la littérature où elle varie entre 4 à 22% dans la population générale et de 10 à 44% dans la population des hommes infertiles (Diallo *et al.*, 2015).

La varicocèle compromet le système de régulation thermique du testicule. Elle est caractérisée par une stase veineuse, un stress thermique, hypoxie et l'accumulation des métabolites toxiques dans les testicules qui conduisent à l'élévation de production des molécules réactives d'oxygène et l'apoptose durant les stades spécifiques de la spermatogenèse (Gwo-JangWu *et al.*, 2009).

4. Antécédents familiaux

Dans notre cohorte, 14 patients avaient au minimum un antécédent familial soit une fréquence de 28%, et 36 patients sans antécédents familiaux soit une fréquence de 72% (Figure 19).

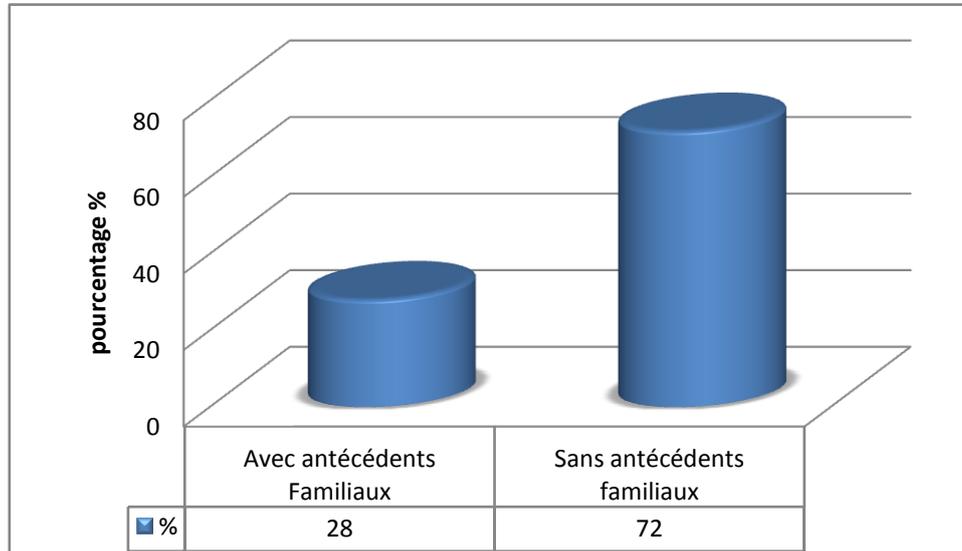


Figure 17 : Répartition des hommes selon les antécédents familiaux

Ces valeurs sont similaires à ceux enregistrées par Ounis, soit 69,6% n'ayant aucun antécédent familial et 30,4% ont indiqué avoir des antécédents familiaux d'infertilité (Ounis, 2014).

5. Antécédents chirurgicaux

Sur les 50 patients, les antécédents chirurgicaux sont absents dans 86% des cas. Par contre, la varicocèle apparaît comme le principal antécédent retrouvé dans notre travail avec une fréquence de 6%. D'autres antécédents sont aussi notés avec des taux relativement faibles comme la montre la figure 20.

Résultats et Discussions

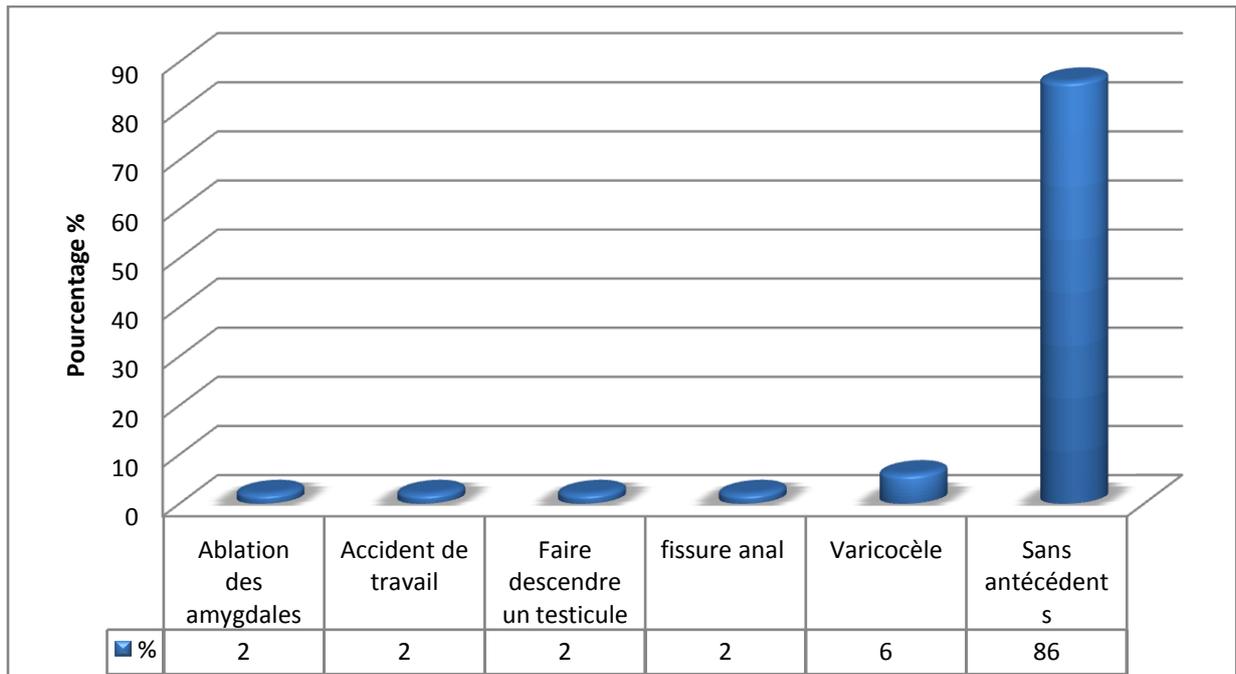


Figure 18 : Répartition des hommes selon les antécédents chirurgicaux

Ces résultats sont différents de celui de Samake et de Sissoko qui ont trouvé que l'hernie inguinale unilatérale est le seul antécédent chirurgical, soit 9,3% et 12% respectivement.

Dans la littérature, la plupart des études ont montré un accroissement significatif de la concentration et de la mobilité des spermatozoïdes après traitement chirurgical de la varicocèle. Cependant, l'amélioration de la morphologie des spermatozoïdes semble être moins bien prouvée (Marmar *et al.*, 2007).

Schlesinger et al avaient revu en méta-analyse dix études comparant la morphologie des spermatozoïdes avant et après chirurgie ; selon eux, seules cinq études avaient mis en évidence une augmentation significative des formes normales après traitement (Schlesinger *et al.*, 1994).

Bouchot et al ont rapporté des résultats différents, ils ont montré à partir d'une série de 159 patients consultant pour infertilité, que le traitement de la varicocèle entraînait une augmentation significative des pourcentages des formes normales et des spermatozoïdes motiles, bien que l'augmentation de la concentration des spermatozoïdes n'était pas significative (Bouchot *et al.*, 1999).

Résultats et Discussions

6. Résultats du spermogramme

- Répartition des sujets selon les cas normaux et pathologiques

Sur la base des résultats du spermogramme nous avons recensé parmi les 50 cas étudiés, 28 présentent des anomalies spermatiques, qui sont considérés comme cas pathologiques, tandis que 22 sont des cas normaux, soit des taux de 56% et 44% respectivement (Figure 21).

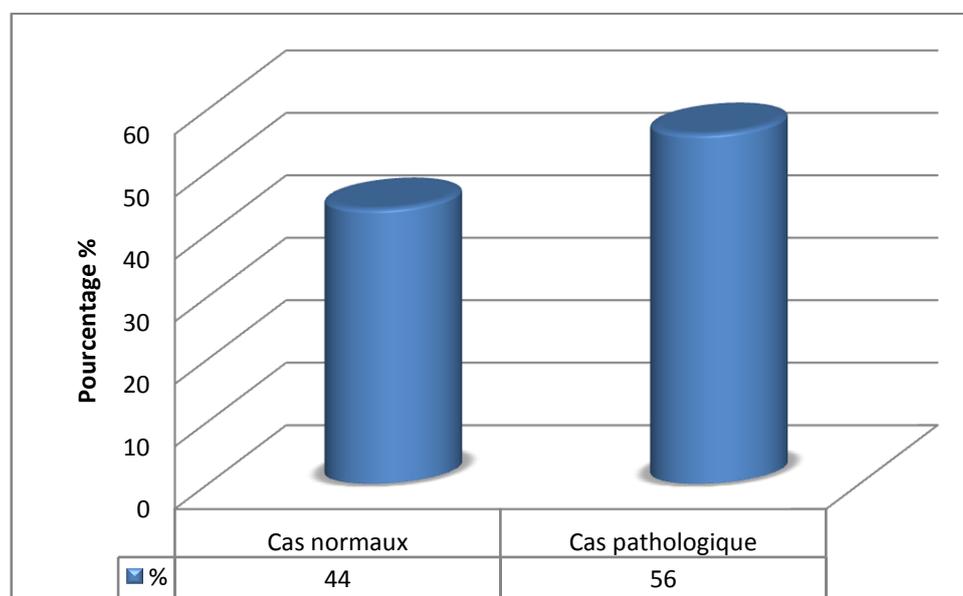


Figure 19 : Répartition des sujets selon les cas normaux et pathologiques

Des études menées en Algérie, dans la région de Annaba, révèlent que 85,20% des cas sont pathologiques et 14,80% des cas sont normaux (Daroui, 2001), et dans une autre étude 87,92% des cas sont pathologiques et 12,07% des cas sont normaux (Nazzal, 2002), ce qui est comparativement différent à nos résultats.

Il est important de signaler que ces proportions ne peuvent en aucune façon refléter la réalité de la santé reproductive de l'homme algérien. Pour faire cette évaluation, il serait intéressant de mener une étude à grande échelle, au niveau national, pour mesurer les paramètres spermatiques dans un large échantillon de notre population.

- Analyse spermatique

Les résultats obtenus consignés dans le tableau 9, ont montré que le pH d'éjaculats moyen est normal, compris entre 7 et 8. Il est de 7,8 chez les hommes infertiles et 7,38 chez les hommes fertiles.

Il n'y a pas une différence significative entre le volume séminal moyen des hommes fertiles et celui des hommes infertiles (3,41 ml versus 3,12 ml).

Résultats et Discussions

La moyenne de la numération spermatique de ($15,13 \pm 19,61$) millions/ml a été observée dans le groupe de patients d'hommes infertiles, alors que chez les hommes fertiles, la moyenne est de ($93,80 \pm 19,30$) millions/ml.

L'analyse de la mobilité des spermatozoïdes montre que les formes immobiles sont les plus représentées avec une moyenne de 60,89% chez les hommes infertiles, alors que les formes de spermatozoïdes de mobilité lente ou rapide sont les moins représentées.

Tandis que, le groupe d'hommes fertiles se caractérise par des spermatozoïdes de mobilité rapide, suivie par des formes de mobilité lente et immobile.

Les fréquences des formes atypiques des spermatozoïdes montrent que dans le cas des normospermies, la moyenne est de 25,21% de formes atypiques. Alors que dans le cas des spermocytogramme anormaux des hommes infertiles, la moyenne des formes atypiques présente 40,58%.

Tableau 8 : Comparaison des différents paramètres spermatiques chez les cas pathologiques et normaux

Paramètres spermatiques	Cas pathologiques	Cas normaux
pH	$7,8 \pm 0,25$	$7,38 \pm 0,38$
Volume séminal (ml)	$3,12 \pm 1,37$	$3,41 \pm 0,45$
Concentration spermatique (millions/ml)	$15,13 \pm 19,61$	$93,8 \pm 19,30$
Mobilité (%)		
- Rapide	$24,02 \pm 24,18$	$75,89 \pm 8,04$
- Lente	$15,09 \pm 9,1$	$12,05 \pm 4,1$
- Immuable	$60,89 \pm 28,5$	$12,06 \pm 5,2$
Formes atypiques %	$40,58 \pm 32,28$	$25,21 \pm 7,8$

Les résultats liés aux anomalies macroscopiques des spermogrammes indiquent que le pH d'éjaculats moyen de nos patients se situe dans l'intervalle de la normalité. Ces résultats sont différents de ceux de Sakandé et ses collaborateurs qui ont trouvé que 65% de la population d'homme infertile avaient un liquide séminal basique. Le pH basique reflète une atteinte prostatique et le pH acide évoque une insuffisance des vésicules séminales (Sakandé *et al.*, 2012).

Les moyennes de la numération spermatique que nous avons observée, sont supérieures à celle de Challat et al. qui ont trouvé une différence significative entre le groupe d'hommes

Résultats et Discussions

OATS et témoins, les valeurs moyennes sont respectivement $3,46 \pm 1,7$ millions/ ml et $93,1 \pm 19,62$ millions/ ml (Chellat *et al.*, 2013)

La valeur moyenne du volume spermatique de nos patients est normale compris entre 2 à 6 ml. En dessous de 2 ml, on parle d'une hypospermie. Cette diminution peut s'expliquer par une perte d'une partie de l'éjaculat, ou d'une éjaculat incomplète, ou bien à l'insuffisance des sécrétions de l'une ou l'autre des glandes annexes (situation pouvant correspondre à une prostatite ou à une vésiculite), ou exclusion des vésicules séminales (congénitale ou acquise) où on sera en présence d'une azoospermie et le volume sera généralement inférieur à 1 ml. Tandis que, l'hyperspermie se définit par un volume séminal supérieur à 6 ml. Elle évoque la présence de lésions infectieuses des glandes annexes et en particulier les vésicules séminales. Elle peut être due aussi à une abstinence sexuelle trop longue (Marmor, 2007).

Pour la moyenne de la concentration spermatique, nos résultats sont similaires avec ceux publiés par Aleisa (2013) qui a trouvé également une différence significative dans les valeurs moyennes de la concentration des spermatozoïdes entre 49 hommes fertiles et 160 hommes infertiles saoudiens. Les valeurs moyennes sont respectivement 98,6 millions SPZ/ml, et 14,5 millions SPZ/ml.

L'analyse de la mobilité des spermatozoïdes chez les hommes infertiles, montre que nos résultats rejoignent ce qui a été trouvé dans la littérature. Selon Andolz et al. (1999), la mobilité moyenne des spermatozoïdes n'atteint que 32,4%. Alors que Aleisa (2013), les formes mobiles des spermatozoïdes représentent une moyenne de 40% chez les hommes infertiles et 58% chez les hommes fertiles, une différence a été notée.

Aleisa (2013) a montré que les formes anormales de spermatozoïdes présentent une valeur moyenne de 75% chez les hommes infertiles. Ce résultat est supérieur à notre résultat.

- Répartition des patients selon les anomalies spermatiques

Parmi les 28 cas pathologiques, l'anomalie majeure observée est l'asthénospermie avec une fréquence de 32,14%, suivie par l'oligo-asthénospermie (25%). Des anomalies à moindre fréquences sont aussi observées, tels que l'oligospermie et l'OATS avec des proportions identiques de l'ordre de 14,29% et l'azoospermie avec une fréquence de 7,14%. Par ailleurs, des proportions identiques sont enregistrées dans les cas d'hypospermie et de crypto-asthénospermie, ils sont de l'ordre de 3,57% des cas étudiés (Tableau 10).

Résultats et Discussions

Tableau 9 : Répartition des patients selon les anomalies spermatique

Anomalie spermatique	Effectif	%
Asthénospermie	9	32,14
Azoospermie	2	7,14
Crypto-asthéo-tératospermie	1	3,57
Hypospermie	1	3,57
Oligospermie	4	14,29
Oligo-asthénospermie	7	25
Oligo-asthéo-tératospermie	4	14,29

Dans la littérature, l'analyse de la distribution des fréquences de différentes anomalies spermatiques montre que la valeur de l'asthénospermie retrouvée par Daroui (36,62%) et Nazzal (35%) sont proche de notre fréquence (32,14%) (Daroui, 2001 ; Nazzal, 2002). A l'opposé, des études menées par Chennaf (2012) et Ounis (2014) révèlent des proportions inférieures (20,5% et 27,7% respectivement). Ainsi, deux études réalisées sur la population de Constantine et Tlemcen ont rapporté respectivement des fréquences de 3,70% et 7,40% (Zeghib, 2009 ; Belmokhtar, 2014).

Par ailleurs, l'oligo-asthénospermie occupe également une part importante dans notre échantillon avec 25% de fréquence. Ce résultat est en désaccord avec des études algériennes qui révèlent une fréquence de 1,58% et 8,66% à Constantine (Zeghib, 2009 ; Ounis, 2014), 11,11% à Tlemcen (Belmokhtar, 2014) et 9,09% à Batna (Chennaf, 2012).

Pour l'oligo-asthéo-tératospermie, la fréquence est de 14,29%, cette valeur est inférieure que celle de Zeghib (2009) avec 20,37%, Ounis (2014) avec 25,7%, Belmokhtar (2014) avec 25,92% et de Thonneau et *al.* (1991) qui ont montré que l'OATS est l'anomalie spermatique prédominante chez les hommes consultants pour une infertilité en France, la fréquence est de l'ordre de 21%. Alors que l'étude de Chennaf (2012) a rapporté une faible fréquence par rapport à nos résultats (7,58%).

L'oligospermie présente une fréquence de 14,29%, une valeur proche de celle de Belmokhtar (2014) avec 14,81%.

Dans notre étude, la fréquence de l'azoospermie est de 7,14%. Cette valeur est analogue à celles de Belmokhtar (2014) et Chennaf (2012) qui ont trouvé respectivement 7,4% et 5,3%. Tandis que l'étude de Zeghib (2009) a révélé une fréquence élevée des azoospermies (17,59%).

Résultats et Discussions

7. Résultats du spermoculture

Nous avons distingué 3 groupes en fonction des résultats de la spermoculture : 90% (n=45) des spermocultures sont négatives, 10% (n=5) sont positives à des germes isolés au-dessus du seuil de pathogénicité.

Les bactéries isolées sont *Escherichia coli* (6%), Bacilles à gram+ et *Staphylococcus aureus* avec le même taux (2%) (Figure 22).

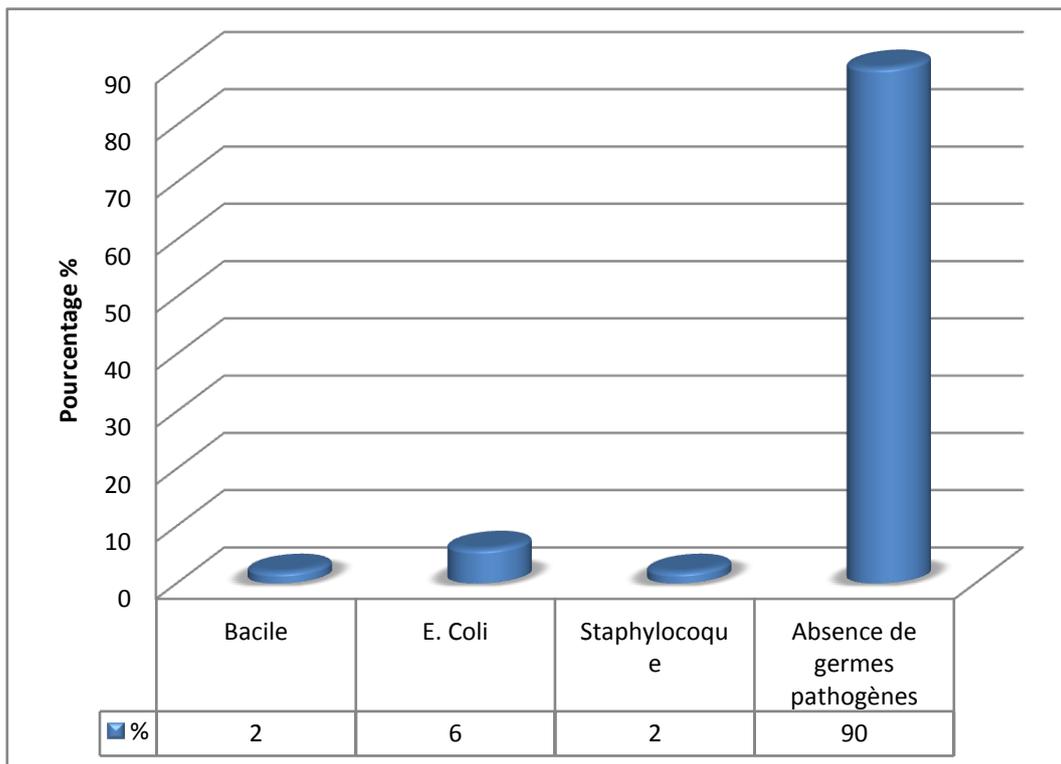


Figure 20 : Répartition des patients selon les résultats du spermoculture

Les infections sont la source d'infertilité chez 10% à 20% des patients où nombreux germes peuvent être en cause (Gram -, Gram + et mycoplasmes) en plus des causes favorisantes, tels que les maladies sexuellement transmissibles ou antécédent de sondage urinaire. Elles sont suspectées devant une leucospermie qui peut être le reflet d'un processus inflammatoire (lithiase prostatique, séquelle d'infection) ou d'une abstinence trop longue qui provoque un chimiotactisme sur les leucocytes engendré par le vieillissement des spermatozoïdes (Aziz *et al.*, 2004).

III. Données cliniques et biologiques chez la femme

1. Age de puberté

L'âge moyen de puberté chez nos patientes est de 12,8 ans. Avec des extrêmes de 9 ans à 16 ans. Leur date de survenue est considérée comme physiologique.

Nous notons que chez la majorité des patientes (84%), l'âge de puberté se situe entre 11 ans et 14 ans (Figure 23).

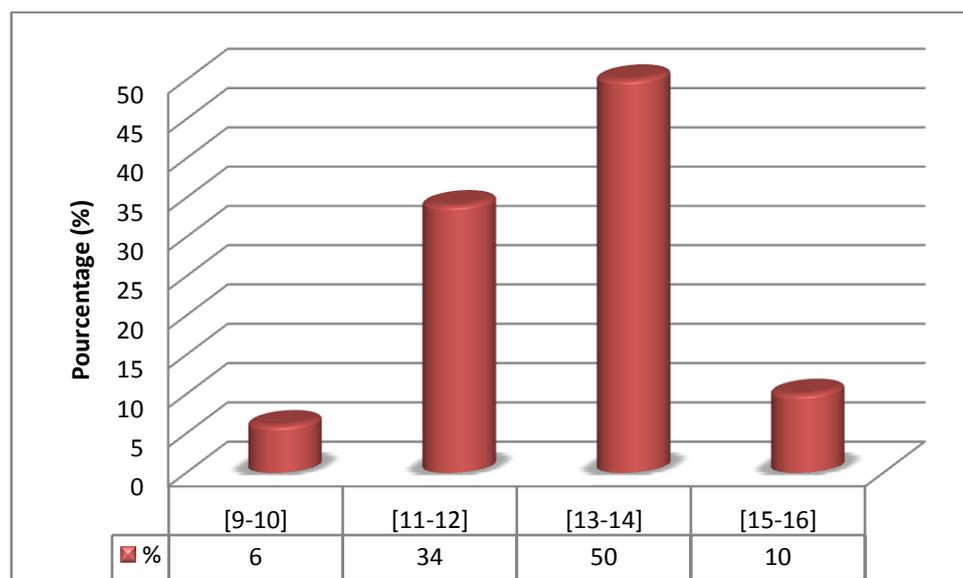


Figure 21 : Répartition des femmes selon l'âge de puberté

En Europe, l'âge des premières règles est en moyenne à 12 ans en Italie, 12,6 ans en France et 13,5 ans en Allemagne (Parent *et al.*, 2003).

Une diminution particulièrement importante de l'âge des premières règles est observée dans la plupart des pays occidentaux. Cependant, la variabilité interindividuelle peut atteindre 4 à 5 ans et dépend de facteurs génétiques et environnementaux et probablement des interactions entre ces deux types de facteurs (Inserm, 2007).

2. Régularité du cycle menstruel et la durée des menstruations

Parmi les 50 patientes, 66% présentent des cycles réguliers et dans 26% des cas les cycles sont irréguliers. Tandis que 8% ont des cycles indéterminés (Figure 14).

La durée normale d'un cycle est de 28 jours \pm 6 jours (Thibault et Levasseur, 2001).

Résultats et Discussions

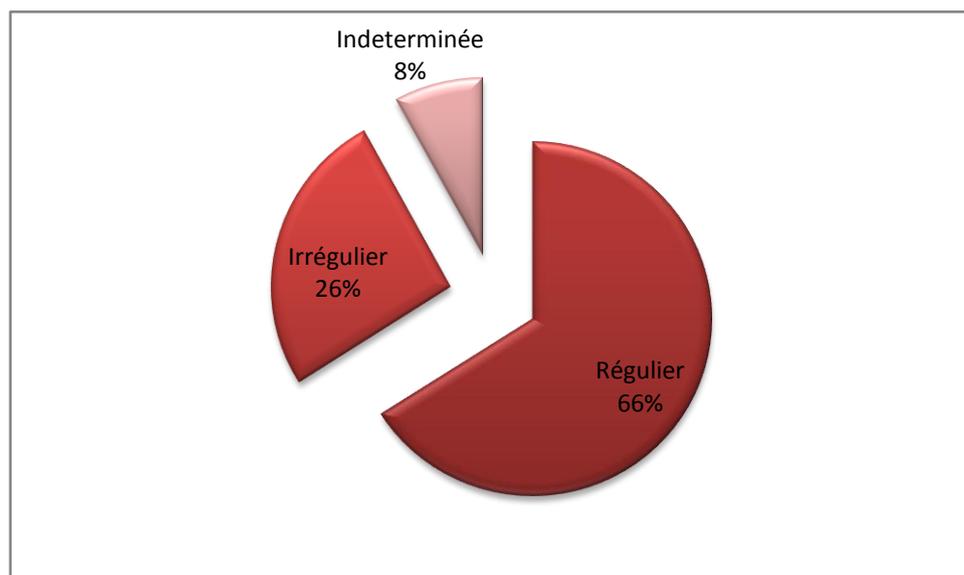


Figure 22 : Répartition des patientes selon la régularité du cycle menstruel

Une étude épidémiologique prospective a été réalisée par Bouzid et Djellel en 2018 à Oum El Bouaghi, menée sur un ensemble de 40 patientes d'où 30 patientes atteintes du Kyste ovarien, montre que toutes les patientes ont un cycle menstruel irrégulier, ce qui est comparativement différent à nos résultats.

Le tableau 11 ci-dessous montre que 11 patientes (22%) ont une durée des règles inférieure à 4 jours, 37 patientes (74%) ont une durée entre 4 et 7 jours et 2 patientes (4%) ont une durée supérieure à 7 jours.

La durée des règles normales se situe entre 3 et 6 jours et l'abondance entre 50 et 80 ml (Henri, 2010).

Tableau 10 : Répartition des patientes selon la durée des règles menstruelles

Durée des règles	Effectif	%
< 4 jours	11	22
4 à 7 jours	37	74
> 7 jours	2	4

Nos valeurs sont comparativement différentes de celle signalée dans l'étude d'Adham à Marrakech, qui révèle un taux de 8,6% des enquêtées présentant une durée inférieure à 4 jours, un taux de 63,4% qui ont une durée entre 4 à 6 jours et 28% qui ont une durée supérieure à 6 jours (Adham, 2007).

Résultats et Discussions

L'ensemble des auteurs estiment qu'environ 50% des kystes ovariens sont à l'origine des irrégularités menstruelles de type oligoménorrhée et aménorrhée lors des études prospectives. Le SOPK s'accompagne d'infertilité par anovulation dans 20 à 74% des cas (Audebert ,2013).

3. Hirsutisme et acné

Dans notre série nous notons que 2% des patientes présentent le signe d'hirsutisme et 10% des cas présentent le signe d'acné (Figure 25).

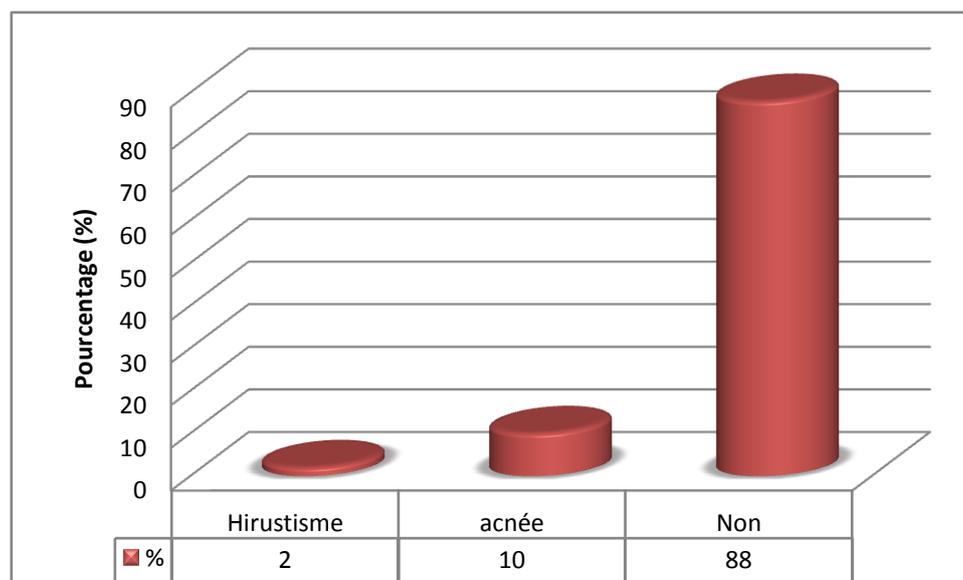


Figure 23 : Répartition des patientes selon la présence d'hirsutisme et d'acné

L'hirsutisme et l'acné sont des manifestations cutanées d'hyperandrogénémie, qui font évoquer un SOPK. Plusieurs études récentes ont examiné la prévalence des symptômes du SOPK dans des populations non sélectionnées et ont montré qu'approximativement 5% des femmes avaient des signes cliniques évidents d'hyperandrogénie (hirsutisme ou acné) (Clément et Benkhalifa, 2006).

4. Antécédents familiaux

Sur les 50 patientes, que nous avons recrutées au cours de cette étude, plus de la moitié à savoir 82% des patientes ne présentent pas d'antécédents familiaux.

Par ailleurs, 6% des patientes ont des cas d'avortement spontané dans leurs familles, le reste des antécédents comme le cancer du sein et le SOPK et l'infertilité primaire se réparties de façon égale (4%) (Figure 26).

Résultats et Discussions

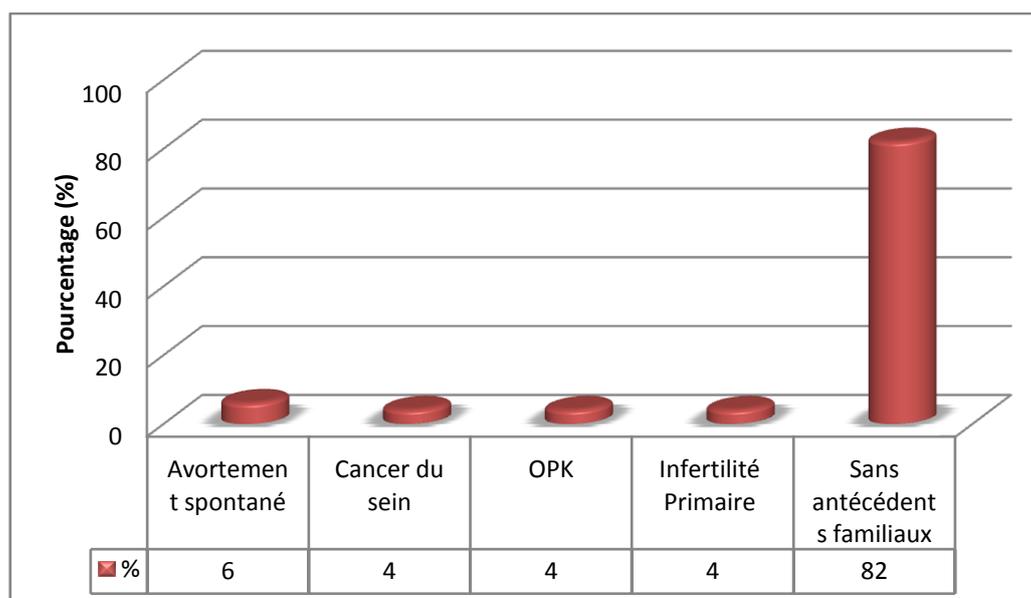


Figure 24 : Répartition des patientes selon les antécédents familiaux

Notre répartition des antécédents familiaux est différente de celle retrouvée par Maï (2016) dans la région d'Oran et Sidi Bel Abbès, d'où 83 patientes soit un pourcentage de 32,94% avaient des antécédents familiaux, la grande majorité de ces patientes avaient une sœur souffrant d'infertilité (41%), suivie par celles qui avaient une tante à un problème d'infertilité, alors que pour les femmes qui avaient un frère ou un oncle avec des problèmes d'infertilité les pourcentages étaient respectivement de 18% et de 12%.

En effet, la recherche des antécédents familiaux a mis en évidence une association entre l'infertilité et les antécédents familiaux, avec un pourcentage de 24% d'infertilité chez les femmes dont les mères avaient, pendant un certain temps des problèmes de fertilité, et chez 32% des femmes dont la sœur avait un problème d'infertilité (Samiha *et al.*, 2006).

5. Antécédents médicaux

Nous ressortons dans le tableau 12 ci-dessous, qu'un peu plus de la moitié de notre cohorte ne présentent pas d'antécédents médicaux soit un pourcentage de 58%.

En revanche, le SOPK et le fibrome sont les principaux antécédents médicaux retrouvés chez nos enquêtées, avec des taux respectivement de 14% et 10%. Le reste de la population présente d'autres antécédents avec des taux relativement faibles.

Résultats et Discussions

Tableau 11 : Répartition des patientes selon les antécédents médicaux

Antécédents médicaux	Effectif	%
Diabète	2	4
Dysthyroïdie	2	4
Fibrome	5	10
OPK	7	14
Polypes endométriales	1	2
Troubles de l'ovulation	2	4
Infertilité tubaire	1	2
infection post-partum	1	2
Sans antécédents	29	58

Il existe beaucoup de maladies gynécologiques qui ont été incriminées comme étant associées à l'infertilité comme l'endométriose, les fibromes utérins, et les ovaires polykystiques. Les fibromes utérins ont également été identifiés comme étant la cause de l'infertilité dans un grand nombre d'études (Buttram & Reiter, 1981). Cependant, l'impact exact des fibromes sur l'infertilité est encore controversé (Siregar, 2013).

6. Antécédents chirurgicaux

Sur les 50 patientes de notre série la majorité des patients n'ont pas d'antécédents chirurgicaux, à savoir 45% des cas. Le reste de la population possède comme antécédent, la kystéctomie avec un taux de 2%, l'ablation des amygdales, l'appendicectomie et le fibrome avec des pourcentages équivalents (1%) (Tableau 13).

Tableau 12 : Répartition des femmes selon les antécédents chirurgicaux

Antécédents chirurgicaux	Effectif
Ablations des amygdales	1
Appendicectomie	1
Kystéctomie	2
Fibrome	1
Sans antécédents familiaux	45

Des études menées par certains auteurs ont déclaré que l'infertilité peut survenir après une appendicectomie ou tout autre type de chirurgie abdominale ; elle multiplie le risque d'infertilité primaire par 4,7 et secondaire par 7,1 (Lansac et Guerif, 2005 ; Samiha *et al.*, 2006).

7. Antécédents obstétricaux

Sur un total de 50 patientes, 10 ont déjà fait des avortements, soit un taux de 20% (Figure 27).

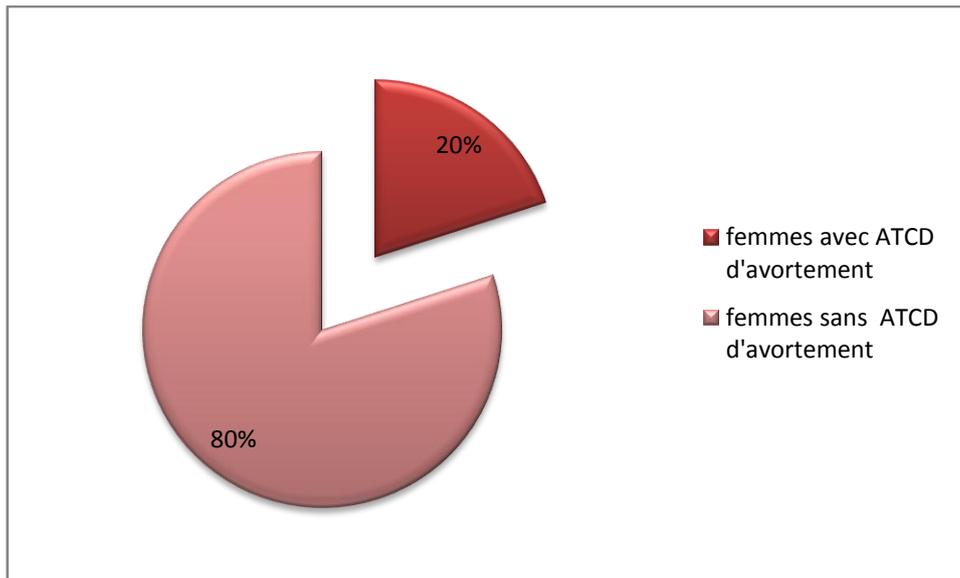


Figure 25 : Répartition des patientes selon la présence ou l'absence d'antécédent d'avortement

Ces valeurs sont comparativement supérieures de ceux signalés par Maï (2016) à la région d'Oran et Sidi Bel Abbès, d'où un taux de 16,9% des patientes avait déjà eu un avortement, le reste des patientes (83,1%) n'avaient pas eu d'avortement.

En 2011, Bruce et son équipe montre que les antécédents d'avortement sont associés très significativement à un fort taux d'infertilité secondaire comparée au primaire, soit 63,7% contre 9,8% (Bruce *et al.*, 2011).

8. Profil hormonal

L'étude du profil hormonal des patientes dévoile que la majorité des femmes avaient des niveaux normaux pour les hormones étudiées (de 80% jusqu'à 90% pour les différentes hormones), quelques patientes avaient des niveaux réduits de LH (10,35%) et d'estradiol (8%). Le pourcentage de niveau réduit pour les autres hormones se situe entre 3,12 % et 5,71%.

Alors que les hormones repérées avec des pourcentages un peu élevés sont la prolactine (14,29%) et la LH (12%), un pourcentage de niveau élevé a été marqué pour les autres hormones se situe entre 6,67% et 9,38% (Tableau 14).

Résultats et Discussions

Tableau 13 : Répartition des patientes en fonction de leur profil hormonal

Hormone	Normal N (%)	Elevé N (%)	Réduit N (%)	Moyenne \pm écart-type	Niveau de référence
TSH(μ UI/ml)	27 (90)	2 (6,67)	1 (3,33)	2,27 \pm 1,16	0.27–4.2 μ UI/mL
Prolactine (ng/ml)	28 (80)	5 (14,29)	2 (5,71)	21 \pm 15,49	6.0–29.9 ng/mL
LH (mUI/ml)	24 (82,76)	2 (6,89)	3(10,35)	6,43 \pm 4,08	2.4–12.6 mUI/mL
FSH (mUI/ml)	28 (87,5)	3 (9,38)	1 (3,12)	7,03 \pm 5,39	3.5–12.5 mUI/mL
Estradiol II (pg/ml)	20 (80)	3 (12)	2 (8)	74,64 \pm 75,39	12.5–166 pg/mL

Les résultats de l'étude du profil hormonal chez les femmes infertiles ont révélé un taux de LH de $6,43 \pm 4,08$ mUI/mL. Des résultats approximativement similaires ont été exposés dans une étude faite en Iraq qui a identifié un taux moyen de LH de 8.79 ± 10.01 mUI/ml chez les femmes infertiles (Rashid et Tayfoor, 2013), alors qu'une autre étude a trouvé un niveau un peu élevé de 10.20 ± 4.36 mUI/ml (Shapla *et al.*, 2014).

Le niveau moyen de FSH était de ($7,03 \pm 5,39$ mUI/mL), ce résultat est dissemblable de ce qui a été indiqué par d'autres études où les niveaux de FSH chez les femmes infertiles sont réduits. Une étude faite sur 110 femmes infertiles a détecté une moyenne de FSH égale à (2.58 ± 1.63 mUI/ml) (Shapla *et al.*, 2014), un résultat similaire à celui-ci a été déploré dans une étude faite au Nigéria où le niveau de FSH était égale à (3.66 ± 1.35 mUI/ml) (Rashid et Tayfoor, 2013).

Les taux de FSH détectés dans notre échantillon étudié s'approche de ce qui a été rapporté par Odiba et al dans leur analyse des niveaux de FSH chez 150 femmes infertiles, 92% des patientes avaient des taux normaux, 6% avaient des niveaux élevés et 2% avaient des niveaux réduits (Odiba *et al.*, 2014).

Le bilan hormonal (gonadotrophine) réalisée au 3ème jour du cycle présente un intérêt à la fois diagnostique quant à l'étiologie de l'infertilité et un intérêt prédictif quant aux chances de succès d'une éventuelle prise en charge du couple en AMP (Odiba *et al.*, 2014).

Des niveaux en dessous des limites normales pour la FSH et LH au cours de la phase folliculaire indiquent que les facteurs provoquant l'infertilité peuvent être des défauts dans la glande pituitaire, la GnRH ou l'hypothalamus. D'autre part, les valeurs de FSH et de LH en dessus des limites normales suggèrent un problème découlant d'autres composants du système reproducteur, probablement un défaut dans la régulation du mécanisme de feed-back négatif dans l'hypothalamus par les œstrogènes et la progestérone (David *et al.*, 2006).

Résultats et Discussions

Dans notre étude, les niveaux de FSH et de LH pour la majorité des patientes étaient dans les normes, cela dit selon Larsen, des valeurs normales de la LH et FSH qui impliquent la présence d'une ovulation normale, mais sans niveau approprié de progestérone pour la préparation de l'endomètre engendreront très souvent des fausses couches qui passeront inaperçues. Cette suggestion suppose que même si les taux de ces 2 hormones sont normaux, il est possible que les patientes aient des niveaux anormaux de progestérone (Larsen, 2003).

Le fait que la majorité des patientes ont des taux de LH et de FSH dans les limites normales peut aussi suggérer que la cause de l'infertilité est due à d'autres facteurs tels que les dommages à l'ovaire, problèmes dans les trompes ou une infection (Larsen, 2003).

La majorité des auteurs concluent que des niveaux anormaux de ces hormones conduisent à l'apparition du syndrome de défaut de phase lutéale chez les femmes infertiles. Selon Alexander et ses collaborateurs (1992) ce défaut de phase lutéale est le résultat de nombreux mécanismes complexes bien que l'atteinte de l'axe hypothalamus-hypophyse-ovaire soit le plus important. Moltz et al. (1991) indiquent que des valeurs réduites de FSH et de LH sont retrouvées dans 28,7% des cas de défaut de phase lutéale.

La possibilité de l'existence d'un défaut de phase lutéale dans notre échantillon ne peut être totalement exclue même si la majorité des femmes avaient des niveaux normaux de FSH et de LH.

La mesure des taux de prolactine et de TSH, sont considérées comme une composante importante du diagnostic de l'infertilité chez les femmes (Maï, 2016).

Les dysfonctionnements thyroïdiens interfèrent avec de nombreux aspects de la reproduction et la grossesse. Plusieurs articles ont mis en évidence l'association de l'hyperthyroïdie ou l'hypothyroïdie avec les perturbations menstruelles, des cycles anovulatoires, la baisse de fécondité et une morbidité accrue pendant la grossesse (Maï, 2016).

Dans notre étude, les problèmes de thyroïde sont détectés chez 10% des patientes alors que l'hyperprolactinémie est retrouvée avec un pourcentage de 14,29%. Ces pourcentages sont nettement plus faibles que ceux présentés dans d'autres études. La prévalence du dysfonctionnement de la thyroïde était de 33,3 % dans l'étude de Rahman et son équipe, et de 16% dans l'étude de Biradar, alors que l'hyperprolactinémie était retrouvée avec un pourcentage de 19,09% dans l'étude de Shapla et ses collaborateurs (Rahman *et al.*, 2010 ; Biradar, 2012 ; Shapla, 2014).

L'augmentation des niveaux de prolactine est liée à la présence d'une infertilité. L'hyperprolactinémie a plusieurs effets qui peuvent interférer avec l'ovulation conduisant à l'infertilité, ce qui inclut la diminution de la GnRH (gonadolibérine), l'inhibition de la

Résultats et Discussions

libération de LH et FSH interférant ainsi avec l'ovulation et l'inhibition de la sécrétion d'œstrogène et de progestérone dans l'ovaire (Maï, 2016).

9. Résultats de l'IAC

Parmi les 50 couples recensés, 20 cas ont réalisé l'IAC. Le taux de grossesse réussie est légèrement diminué (30% des cas) (Figure 28).

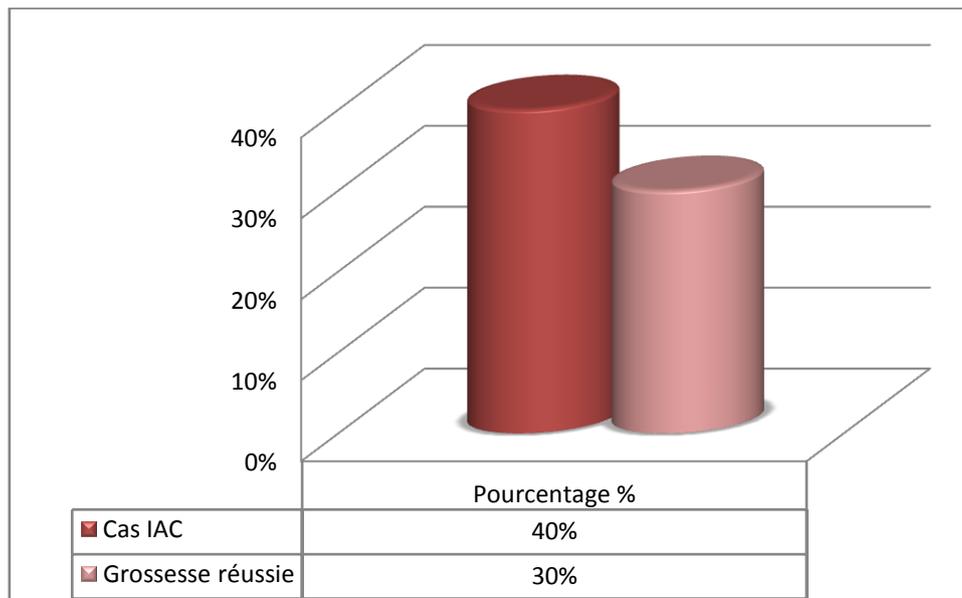


Figure 26 : Répartition des patients en fonction de taux de succès de l'IAC

Une étude prospective et comparative sur des couples infertiles algériens et hollandais suivis dans un centre médical, révèle que le taux de succès de grossesse est de 27,45% dans la population Hollandaise et de 24,61% dans la population algérienne. Notre résultat se rapproche de celui retrouvé dans population hollandaise. Par contre, elle est légèrement élevée par rapport ce qu'a été trouvé dans d'autres régions de l'Algérie (El-Haina et Bendahmane, 2017).

La combinaison de certains facteurs notamment, le nombre de spermatozoïdes mobiles progressifs inséminés, les antécédents médicaux, ainsi que l'état psychique est cruciale et permettent d'évaluer le pronostic en termes de chance de grossesse.

IV. Résultats de l'analyse moléculaire du polymorphisme I/D gène *ECA*

Les résultats de l'étude génétique du polymorphisme I/D du gène *ECA* ont été relevés seulement pour 45 patients (22 femmes et 23 hommes) à cause des problèmes rencontrés lors de la réalisation de la PCR.

La population considérée a été répartie en 2 groupes : le groupe 1 (femmes-hommes) fait de 45 patients, le groupe 2 (témoins de deux sexes) comportant 55 individus sains.

Les bandes de l'électrophorèse ont permis d'identifier trois génotypes : la bande 190pb correspond à l'homozygote DD et la bande 490pb correspond à l'homozygote II. Les deux bandes 190 pb et 490 pb correspondent à l'hétérozygote ID dans les deux populations patients et témoins (Figure 29).

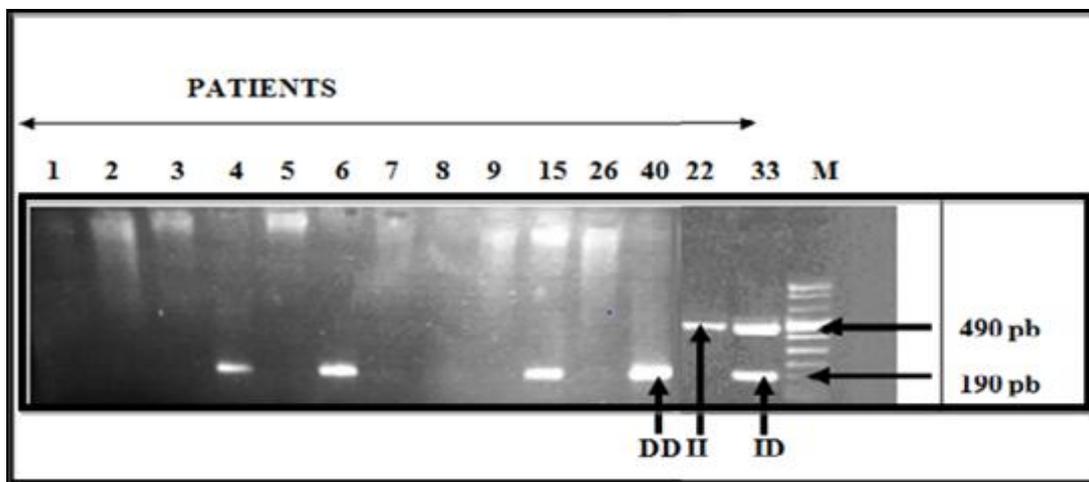


Figure 27 : Photographie du profil électrophorétique des fragments amplifiés par PCR du gène *ECA* sur gel d'agarose 2% (Guendouzi et Hamiouda, 2019)

1. Fréquences génotypiques et alléliques

À partir des résultats ainsi obtenus, les fréquences génotypiques et alléliques ont été calculées (Tableau 15, figure 30 et figure 31).

Tableau 14 : Fréquences génotypiques et alléliques dans notre population

Patients					Témoins				
DD	DI	II	D	I	DD	DI	II	D	I
36	3	6	75	15	25	28	2	78	32
80%	6,67%	13,33%	83,33%	16,67%	45,45%	50,91%	3,64%	70,9%	29,1%
45			90		55			110	
100%			100%		100%			100%	

Résultats et Discussions

L'analyse des résultats révèle une répartition des fréquences génotypiques et alléliques hétérogène entre les patients infertiles et les témoins. En effet, le génotype homozygote DD est plus fréquent chez les patients (80%) que chez les témoins (45,45%). A l'opposé, le génotype de l'hétérozygote ID est plus fréquent chez les témoins (50,91%) que chez les patients (6,67%). La fréquence du génotype II est de 13,33% chez les patients et de 3,64% chez les témoins.

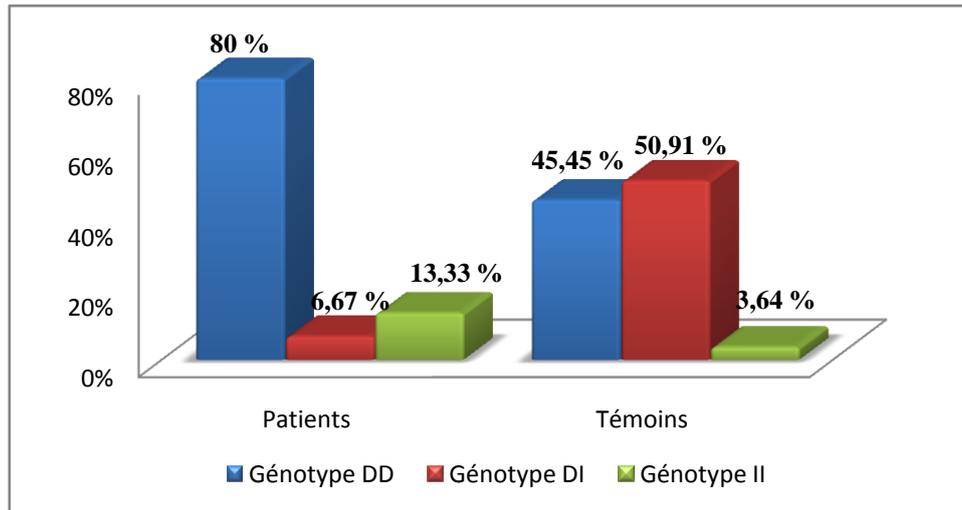


Figure 28 : Répartition des fréquences génotypiques dans notre population

De même que pour les fréquences génotypiques, les fréquences alléliques présentent une certaine disparité entre les deux groupes. En effet, l'allèle D est le plus fréquent chez les deux groupes (80,33% chez les patients et 70,9% chez les témoins). L'allèle I est retrouvé à une fréquence relativement élevée chez les témoins (29,1%) et ce en comparaison avec les patients (16,67%).

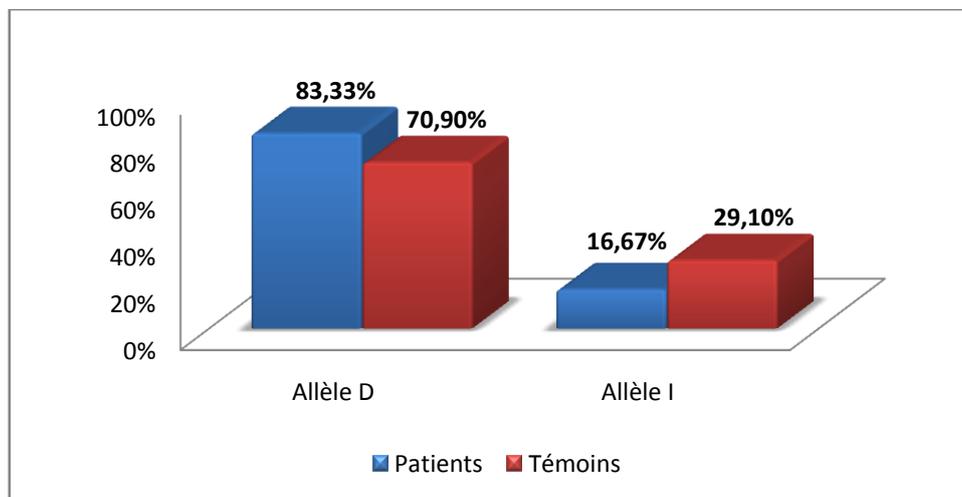


Figure 29 : Répartition des fréquences alléliques dans notre population

Résultats et Discussions

Une fois les fréquences génotypiques et alléliques calculés, nous avons procédé à l'analyse statistique des données obtenues. Après le calcul de l'OR et de la *p-value*, les résultats ont montré une association significative entre les deux groupes ($p = 0,0004$ pour DD versus II+DI ; $p = 0,00009$ pour II versus DI et $p = 0,039$ pour I versus D) (Tableau 16).

Tableau 15 : Résultats de l'analyse statistique du polymorphisme I/D du gène *ECA* dans la population patients et témoins

Modèle de comparaison	DD Vs II+DI	II Vs DD+DI	II vs DD	II vs DI	I vs D
OR	4,80 (1,79-13,16)	3,79 (0,64-28,75)	2,08 (0,33-16,38)	28 (2,92-380,1)	0,49 (0,23-1,02)
Risque relatif	2,56 (1,39-4,71)	1,70 (1,7-2,69)	1,27 (0,81-2,00)	7,75 (2,46-24,41)	0,65 (0,42-1,02)
P-value	0,0004	0,09	0,38	0,00009	0,039

Dans la littérature scientifiques, aucune étude antérieure ou en cours, sur la corrélation entre l'infertilité du couple et le polymorphisme I/D du gène *ECA*, dans aucun groupe ethnique n'a été réalisée jusqu'au 2018.

Une étude a été publiée en 2018, a révélé une association entre le polymorphisme I/D du gène *ACE* et l'infertilité féminine dans la population saoudienne, sur 150 sujets féminins stériles et 150 témoins, les résultats ont montré une association significative ($p < 0,05$) : Prédominance du génotype DD (54.7%) chez les patientes et de génotype II (40%) chez les témoins (Al-Mutawa, 2018).

Néanmoins, les résultats des fréquences alléliques se concordent avec nos résultats : une prédominance de la fréquence de l'allèle D chez les deux groupes dont la fréquence est de 72% et 61% (Al-Mutawa, 2018).

2. Corrélation du polymorphisme I/D du gène *ECA* et certains facteurs de risque de l'infertilité

- Age

Nous notons une prédominance de génotype DD et de l'allèle D pour les deux tranches d'âge. Statistiquement, aucune association positive n'est marquée entre la tranche d'âge et le polymorphisme étudié dans notre population (Tableau 17).

Résultats et Discussions

Tableau 16 : Corrélation entre le polymorphisme I/D de l'ECA et l'âge des patients

Age	DD	DI	II	OR	P value	Allèle I	Allèle D	OR	P value
<35 ans (n=22)	n=19	n=1	n=2	-	0,58	n=9	n=35	1,71(0,49-6,12)	0,34
>35 ans (n=23)	n=17	n=2	n=4			n=6	n=40		

La baisse de la fertilité avec l'âge s'explique par la diminution avec les années de la réserve ovarienne et de la qualité ovocytaire (Brzakowskia *et al.*, 2009), ceci peut être liée à un défaut d'expression de l'ECA dans l'ovaire. Aucune étude concernant l'association du polymorphisme I/D du gène ECA avec l'âge de procréation.

- Obésité

L'obésité est observée chez 16 patients. Neufs patients portent l'allèle I. La *p-value* qui a été calculé est inférieur à 0,05, donc nous conclurons qu'il y a une association significative entre la présence du polymorphisme du gène ECA et l'obésité chez les individus infertiles (Tableau 18).

Tableau 17 : Corrélation entre le polymorphisme I/D de l'ECA et l'IMC des patients

IMC	DD	DI	II	OR	P-value	Allèle I	Allèle D	OR	P-value
<30 kg/m ² (n=29)	n=26	n=0	n=3	-	0,031	n=6	n=52	0,29(0,08-1,05)	0,030
>30 kg/m ² (n=16)	n=10	n=3	n=3			n=9	n=23		

Riera-Fortuny *et al.* ont trouvé que le type et le grade de l'obésité étaient en corrélation avec les génotypes du polymorphisme I/D du gène ECA, les sujets présentant des génotypes DD ou DI présentent une prévalence significativement plus élevée avec l'obésité où le dépôt de graisse abdominal et des valeurs élevées de poids et de tour de taille (Riera-Fortuny *et al.*, 2005).

- Tabagisme

Nous avons analysé l'association entre le polymorphisme du gène ECA et le tabagisme chez les 14 fumeurs de nos patients. Le calcul statistique ne montre pas une association

Résultats et Discussions

significative entre l'expression de ce polymorphisme et le facteur du tabagisme dans l'infertilité (Tableau 19).

Tableau 18 : Corrélation entre le polymorphisme I/D de l'ECA et le statut tabagique des patients

Tabagisme	DD	DI	II	OR	P-value	Allèle I	Allèle D	OR	P-value
Fumeurs et anciens fumeurs (n=14)	n=11	n=2	n=1	-	0,48	n=3	n=23	1,04(0,12-10,29)	0,96
Non fumeurs (n=9)	n=8	n=0	n=1			n=2	n=16		

Les composants de la fumée de cigarette passent la barrière hémato testiculaire et entraînent une altération des paramètres spermiologiques et de la qualité du noyau des spermatozoïdes, il semble que le stress oxydatif généré par le tabac soit une des hypothèses les plus probables (Sépaniak *et al.*, 2006). En effet, les dérivées réactives de l'oxygène (DRO) sont sous la réglementation d'ECA1 et ECA2, activés par ECA1 et atténués par ECA2 (Pan *et al.*, 2013).

3. Corrélation du le polymorphisme I/D de l'ECA et les antécédents médicaux et obstétricaux

Selon le tableau 20, nous n'avons observé aucune association significative entre le polymorphisme I/D de l'ECA et les antécédents médicaux ou obstétricaux sauf dans le cas de SOPK ; une corrélation significative a été observée chez nos patientes avec SOPK et le polymorphisme I/D du gène ECA $p < 0,05$.

Résultats et Discussions

Tableau 19 : Corrélation entre le polymorphisme I/D de l'*ECA* et les antécédents médicaux et obstétricaux

Antécédents	DD	DI	II	Allèle I
Fibrome (n=5) OR(95%IC) P-value	n=5 / 0,16	n=0 0(0-71,28) 0,57	n=0 0(0-6,12) 0,23	n=0 0(0-1,82) 0,06
SOPK (n=7) OR(95%IC) P-value	n=3 0,05(0-0,89) 0,008	n=0 0(0-42,25) 0,48	n=4 / 0,001	n=8 3,87(0,62-25,07) 0,08
Dysthyroïdie (n=2) OR(95%IC) P-value	n=2 / 0,42	n=0 0(0-311,62) 0,74	n=0 0(0-25,8) 0,48	n=0 0(0-6,63) 0,28
Avortement (n=8) OR(95%IC) P-value	n=7 2,8(0,2-81,62) 0,38	n=1 / 0,17	n=0 0(0-2,7) 0,09	n=1 0,19(0,01-1,82) 0,10

Des études antérieures ont examiné le rôle du gène de l'*ECA* dans les facteurs d'infertilité masculine et féminine, y compris le SOPK et l'endométriose (Li *et al.*, 2016).

Le SOPK est la principale cause d'infertilité ovulatoire, touchant 5 à 7% des femmes en âge de procréer, et l'activité du SRA dans le SOPK suggère une corrélation importante entre le SRA et le SOPK (Pan *et al.*, 2013).

Des résultats d'une méta-analyse réalisé par Jia et ses collaborateurs, de six études portants sur 1501 cas et 773 témoins ont montré qu'aucune association significative entre le polymorphisme I/D et le SOPK dans la population globale. Cependant, dans les analyses de sous-groupes stratifiés selon l'ethnie, une association significative a été observée chez les caucasiens (OR = 1,48, IC à 95%, 1,00 à 2,19 pour D contre I; OR = 1,61, IC à 95%, 1,14 à 2,27 pour DD contre II; OR = 1,43, IC 95%, 1,01-1,97 pour DD et DI vs II), mais pas chez les asiatiques (Jia *et al.*, 2013).

Pour les antécédent obstétricaux, contrairement à nos résultats plusieurs études ont rapporté l'association entre leurs polymorphismes géniques et la perte de grossesse récurrente (RPL), Une association significative a été observée avec le polymorphisme I/D du gène *ECA* (OR 1,29 (intervalle de confiance à 95%: 1,02-1,62)) dans le cadre d'études comportant plus de deux avortements récurrents (Su *et al.*, 2013).

Résultats et Discussions

4. Corrélation du polymorphisme I/D de l'ECA et les anomalies spermatiques

Dans le tableau 21, les polymorphismes sont évalués en fonction de type des anomalies spermatiques. Il n'y a aucune association entre le polymorphisme I/D du gène *ECA* étudié et l'infertilité masculine. Ces données semblent indiquer que ce polymorphisme n'a pas d'impact significatif sur la numération spermatique, tout du moins dans la population ciblée étudiée sauf pour les hommes OATS, une association significative a été observée ($p < 0,05$).

Tableau 20 : Corrélation entre le polymorphisme I/D de l'ECA et les anomalies spermatiques

Anomalie spermatiques	DD	DI	II	Allèle I
Asthénospermie (n=6) OR(95%IC) p-value	n=6 0,92(0,05-31,74) 0,95	n=0 2,5(0-113,76) 0,52	n=1 0(0-14,08) 0,37	n=1 0,42(0,02-4,45) 0,43
Azoospermie (n=2) OR(95%IC) p-value	n=2 - 0,49	n=0 0(0-94,69) 0,64	n=0 0(0-94,69) 0,64	n=0 0(0-12,56) 0,41
Oligospermie (n=3) OR(95%IC) p-value	n=3 - 0,39	n=0 0(0-44,68) 0,56	n=0 0(0-44,68) 0,56	n=0 0(0-7,16) 0,30
Oligo-asthénospermie (n=7) OR(95%IC) p-value	n=6 1,38(0,09-42,68) 0,79	n=0 0(0-10,91) 0,32	n=1 2,5(0-113,76) 0,52	n=2 1,17(0,13-9,17) 0,86
OATS (n=2) OR(95%IC) p-value	n=0 0(0-0,76) 0,001	n=1 20(0-4946,33) 0,03	n=1 20(0-4946,33) 0,03	n=3 - 0,0000037
Hypospermie (n=1) OR(95%IC) p-value	n=1 - 0,63	n=0 0(0-327,29) 0,75	n=0 0(0-327,29) 0,75	n=0 0(0-33,95) 0,57
Crypto-asthénospermie (n=1) OR(95%IC) p-value	n=1 - 0,63	n=0 0(0-342,95) 0,75	n=0 0(0-342,95) 0,75	n=0 0(0-33,95) 0,57

Zalata et al suggèrent que le polymorphisme d'ECA est un facteur de risque pour l'infertilité masculine dont le polymorphisme I/D du gène *ECA* est associé à des variables séminales anormales. Le génotype II de l'ECA a été noté chez 182 hommes, dont 76,5% d'hommes fertiles en bonne santé, et 47,4%, 39,8% et 17,6% de ceux souffrant d'asthénospermie,

Résultats et Discussions

d'asthénotératospermie et d'oligoasthénotératospermie, respectivement. Le génotype DI de l'*ECA* a été noté chez 133 hommes, dont 13,7% d'hommes fertiles en bonne santé, et 42,3%, 27,5% et 47,2% de ceux souffrant d'asthénozoospermie, d'asthénotératospermie et d'oligoasthénotératospermie, respectivement. Le génotype de DD de l'*ECA* a été identifié chez 90 hommes, dont 9,8% d'hommes fertiles en bonne santé, 10,3%, 32,70% et 35,2% de ceux souffrant d'asthénozoospermie, d'asthénotératospermie et d'oligoasthénotératospermie, respectivement (Zalata *et al.*, 2012).

Autre étude a montré que la fréquence de l'allèle D (52,2%) est plus élevée chez les hommes avec des pathologies spermatiques que les hommes fertiles (44,9%), les calculs statistiques ne montrent aucune différence significative entre les deux groupes ($p = 0,15$) (Kucera *et al.*, 2001).

Conclusion
et
Perspectives

Conclusion et Perspectives

La génétique de l'infertilité est un champ très vaste. La connaissance de l'architecture du génome humain réalisée par des études de larges cohortes de sujets atteints de l'infertilité ont permis d'identifier plusieurs gènes associés à ce problème. Parmi ces gènes, le gène *ECA* qui présente, depuis quelques années, un intérêt particulier pour chercher les polymorphismes associés avec plusieurs pathologies.

Notre travail de recherche avait pour but d'étudier l'infertilité du couple dans la population algérienne d'une part et rechercher une association entre le polymorphisme I/D du gène *ECA* et l'infertilité d'autre part.

Notre étude a permis d'identifier les facteurs de risque impliqués dans la survenue de l'infertilité, tels que l'âge, l'obésité, le tabagisme, la présence d'antécédents familiaux et les antécédents médicaux pour les deux sexes.

Les résultats obtenus par l'étude des caractéristiques épidémiologiques concordent avec ce qui est rapporté dans la littérature.

Concernant l'exploration génotypique du polymorphisme I/D de l'*ECA*, nous avons trouvé une prédominance du génotype DD (80%) chez les sujets infertiles par rapport aux témoins (45,45%), également une prédominance de la fréquence de l'allèle D chez les deux groupes. Les tests statistiques effectués ont montré une association significative entre le polymorphisme de l'*ECA* et la survenue de l'infertilité dans notre cohorte.

Par ailleurs, l'étude de corrélation génotype-facteurs de risque, a démontré que le polymorphisme du gène *ECA* n'est pas associé à aucun facteur de risque, alors que la présence du SOPK chez les femmes et OATS chez les hommes, joue un rôle dans l'apparition de l'infertilité.

À la lumière de ce travail de recherche et les résultats obtenus, laissent entrevoir de nombreuses perspectives afin d'approfondir et compléter ce travail:

- étendre l'étude sur un nombre de patients plus conséquent permettant un traitement statistique des données afin de dégager des corrélations entre les paramètres mis en causes et le polymorphisme d'*ECA*.
- étudier les autres gènes impliqués dans l'infertilité, comme : les gènes *CFAP43*, *44* et *69* qui codent des protéines essentielles de la structure du flagelle des spermatozoïdes et le gène *PATL2* qui contrôle la maturité ovocytaire, en prenant en considération les facteurs environnementaux, géographiques et ethniques.

*Références
bibliographique*

Références bibliographiques

ADHAM S. 2007. La dysménorrhée chez l'adolescente, enquête de prévalence dans la région de Marrakech. Thèse de doctorat en Médecine. Université Cadi Ayyad.

ALEISA NAS. 2013. Semen characteristics of fertile and subfertile men in a fertility clinic and correlation with age. *Journal of King Saud University-Science*. 25:63-71.

ALEXANDER S, AKSEL S, YEOMAN R et HAZELTON J. 1992. Gonadotropin and ovarian hormone dynamics in luteal phase defects. *Am J Obstet Gynecol*. 166:652-657.

AL-MUTAWA J. 2018. Interaction avec le gène codant pour une enzyme de conversion de l'angiotensine dans l'infertilité féminine: études sur le polymorphisme d'insertion et de délétion. *Journal saoudien de sciences biologiques*. 25:1617-1621.

ASRM. 2006. Effectiveness and treatment for unexplained infertility. *The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Fertil Steril*. 86:111-114.

AUDEBERT A. 2013. Kystes de l'ovaire de l'adolescente mt Médecine de la Reproduction, Gynécologie Endocrinologie. 15:378-86.

AUGER J, AUER J, ALBERT M et al. 2009. Exploration de la fonction de reproduction versant masculin. Cahier de formation Biologie Médicale N°42. *Bioforma*. ISBN : 2-913633-54-4.

AZIZ N, AGARWAL A, LEWIS-JONES I, SHARMA R K et THOMAS A J. 2004. Novel associations between specific sperm morphological defects and leukocytospermia. *Fertility and Sterility*. 82:621-7.

BAUDIN B. 2005. Enzyme de conversion de l'angiotensine, dans le diagnostic de la sarcoïdose. *Pathol Biol*. 53:183-186.

BEAUDEUX JL et DURAND G. 2008. Biochimie médicale : Marqueurs actuels et perspectives. Médecine Sciences Publications/Lavoisier, Paris. ISBN: 9782257204721.

BELMOKHTAR R. 2014. Les anomalies gonosomiques cas de stérilité. Mémoire de Magister : Génétique Moléculaire des Populations Humaines. Université Abou Baker Belkaid Tlemcen.

BERTHILLER J et SASCO AJ. 2005. Smoking (active or passive) in relation to fertility, medically assisted procreation and pregnancy. *J Gynecol Obstet Reprod*. 34:3S47-54.

Références bibliographiques

BHATTACHARYA C et HAMILTON M. 2014. Management of infertility for the MRCOG and beyond. Cambridge University Press. ISBN: 9781107445178.

BIRADAR S. 2012. Thyroid dysfunction in infertile women. *IJPBS*. 2:53-58.

BOUZID S et DJELLEL N. 2008. Contribution à l'étude de kyste de l'ovaire et association avec l'infertilité dans la région d'Oum El Bouaghi. Mémoire de Master : Biologie et physiologie de la reproduction. Université L'Arbi Ben M'hidi Oum El Bouaghi.

BRZAKOWSKI M, LOURDEL E, CABRY R, OLIERIC M-F, CLAEYS C, DEVAUX A, COPIN H et MERVIEL P. 2009. Épidémiologie du couple infertile. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction*. 38:F3-F7.

BOUCHOT O, PRUNET D, GASCHIGNARD N et BUZELIN JN. 1999. Chirurgie de la varicocèle : résultats sur la mobilité et la morphologie des spermatozoïdes. *Progrès en Urologie*. 9:703-706

BRONSON R. 2001. Biology of the Male Reproductive Tract: Its Cellular and Morphological Considerations. *American Journal of Reproductive Immunology*. 65:212-219.

CAMERON SPRAGUE DC. 2006. Structure and function of the deleted in azoospermia gene. These medicines. Texas: Saint Edward's University.

CHAVARRO JE, TOTH TL, WRIGHT DL, MEEKER JD et HAUSER R. 2010. Body mass index in relation to semen quality, sperm DNA integrity, and serum reproductive hormone levels among men attending an infertility clinic. *Fertility and Sterility*. 93:2222-2231.

CHELLAT D, REZGOUNE ML, MCELREAVEY K, KHEROUATOU N, BENBOUHADJA S, DOUADI H, CHERIFA B, ABADI N et SATTA D. 2013. First study of microdeletions in the Y chromosome of Algerian infertile men with idiopathic oligo- or azoospermia. *Urol Int*. 90:455-9

CHENNAF A. 2012. Etude des facteurs limitant la fertilité masculine dans la région de Batna. Mémoire de Magister : Biologie Animale. Université Hadj Lakhder Batna.

CHRISTIN-MAITRE S. 2010. À la recherche d'une étiologie génétique de l'infertilité féminine. *Mt Médecine de la Reproduction, Gynécologie Endocrinologie*. 12:12-7.

Références bibliographiques

COAT C, PERRIN A, TALAGAS M, TETEFORT R, AMICE J, VALERI A, DE BRAEKELEER M et AMICE V. 2011. Azoospermie: prise en charge et résultats. À propos de 90 cas. *Progrès en Urologie*, 21:946-954.

COATES D. 2003. The angiotensin converting enzyme (ACE). *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 35:769-773.

COPIN H, DEVAUX A, BRASSEUR F, BOULARD V, BRZAKOWSKI M, CABRY R, LOURDEL E et MERVIEL P. 2011. Bilan actualisé de l'infertilité en 2011. Centre d'AMP, Pôle Femme-Mère-Enfant, CHU Amiens.

COUSSIEU C. 2004. Exploration de la fonction de reproduction versant féminin. Cahier de formation Biologie Médicale N°30. *Bioforma*. ISBN : 2-913-633-41-2.

DAROUÏ MH. 2001. Exploration cytologique et biochimique dans l'hypo infertilité masculine. Thèse de magistère en biochimie appliquée. Faculté des sciences de la nature et de la vie. Université d'Annaba, Algérie.

DEBA T, MEROUFEL N, ADDA NEGGAZ L, BEKADA A, HAMMADI M, SEGHIER F, MEDIENE BENCHEKOR S et BENHAMAMOUCH S. 2014. Distribution des allèles ABO à l'ouest algérien. *Transfusion Clinique et Biologique*. 21:251-277.

DIALLO G, BAH M, BARRY M et al. 2015. La varicocèle de l'adulte: aspects anatomocliniques et résultants thérapeutiques au service d'urologie-andrologie de CHU de Conakry. *African Journal of Urology*. 21:137-141.

DZAU VJ, BERNSTEIN K, CELERMAJER D, et al. 2001. The relevance of tissue angiotensin-converting enzyme: manifestations in mechanistic and endpoint data. *American Journal of Cardiology*. 88:1-20.

ELAINE NM et KATJA H. 2007. *Human anatomy and physiology, 7th edition*. ISBN: 978-0135168042.

EL-HAINA ET BENDAHMANE, 2017. Comparaison du taux de succès de l'insémination intra-utérine entre les couples infertiles Algériens et Hollandais pris en charge dans un centre médical. *Antropo*. 37:105-114.

EVERS J. 2002. Female subfertility. *Lancette*. 360:151-9.

Références bibliographiques

EZEH UI, TAUB NA, MOORE HD et COOKE ID. 1999. Establishment of predictive variables associated with testicular sperm retrieval in men with non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod.* 14:1005-12.

FAURE A. 2010. Généralités sur la procréation, la méiose, la spermatogenèse. *Cours en ligne : Université Joseph Fourier de Grenoble.*

FERREIRA R, GASPERIN B, SANTOS J, ROVANI M, SANTOS RA, GUTIERREZ K, OLIVEIRA JF, REIS AM et GONÇALVES PB. 2011. Profil d'Angiotensin II et ARNm codant pour les protéines RAS au cours de la vague folliculaire bovine. *J. Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 12:475-482.

GEISTER KA, BRINKMEIER ML, CHEUNG LY et al. 2015. LINE-1 Mediated Insertion into Pocl1a (Protein of Centriole 1 A) causes growth insufficiency and male infertility in mice. *PLoS Genet.* 23:11-10.

GODWIN I. 2004. Cambridge guide to infertility management and assisted reproduction. Cambridge University Press, UK.

GOUGEON A. 2008. Anatomie, embryologie et physiologie de l'ovaire. *EMC Endocrinologie-Nutrition.* 10-026-A-10.

GUERIN JF. 2001. Bilan raisonnable devant une infertilité masculine. Journées Pyrénéennes de Gynécologie - Tarbes France.

GUNBY J, BISSONNETTE F, LIBRACH C et COWAN L. 2010. Assisted reproductive technologies (ART) in Canada: 2006 results from the Canadian ART Register. *Fertility and Sterility.* 93:2189-2201.

GWO-JANGWU, FUNG-WEI CHANG, SHANG-SEN LEE, YA-YUAN CHENG, CHI-HUANG CHEN et CHING CHEN. 2009. Apoptosis-related phenotype of ejaculated spermatozoa in patients with varicocele. *Fertility and Sterility.* 91. N°3.

HAMDI R. 2013. Stérilité et procréation médicalement assistée: le taux de réussite, en Algérie, est proche de celui mondial. *Santé-MAG.* 19.

HASSOLD T, HUNT P. 2001. To err (meiotically) is human: the genesis of human aneuploidy. *Nat Rev Genet.* 2:280-291.

Références bibliographiques

Henri-Jean Philippe. 2010. Abrégés Connaissances et pratiques. Collège National des Gynécologues et Obstétriciens (CNGOF), Conférence nationale des PU-PH en Gynécologie-Obstétrique. 2è édition, Elsevier Masson, SAS.

HUYGHE E, IZARD V, RIGOT JM, PARIENTE JL et TOSTAIN J. 2008. Evaluation de l'homme infertile : recommandations AFU 2007. *Prog Urol*.18:95-101

HAZARD J et PERLEMUTER L. 2000. Abrégé d'endocrinologie. Paris: 4ème Ed. Masson, p.362-411.

HEDLEY AA, OGDEN CL, JOHNSON CL, CARROLL MD, CURTIN LR et FLEGAL KM. 2004. Prevalence of overweight and obesity among US children, adolescents, and adults, 1999-2002. *JAMA*. 219: 2847-50.

IDELMAN S et VERDETTI J. 2000. Endocrinologie et communications cellulaires (Collection Grenoble Sciences). *EDP Sciences, Paris*. 584 p. ISBN: 2-8688-3476-0.

INOUE N, IKAWA M, ISOTANI A, OKABE M. 2005. La protéine de la superfamille des immunoglobulines Izumo est nécessaire à la fusion du sperme avec des ovules. *La nature*. 434 : 234-238.

JIA H, WANG B et YU L. 2013. Association du polymorphisme d'insertion / délétion de gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine avec le syndrome des ovaires polykystiques: une méta-analyse. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. 14 : 255-262.

JOUANNET P. 1977. Le laboratoire face à la clinique: L'examen du sperme. *Le technicien biologiste*. 4:153-157.

KEEL, BA, MAY JV et DE JONGE CJ. 2000. Handbook of the assisted reproduction Laboratory. CRC Press LLC, USA.

KHALLOUK A, TAZI M F, ELFASSI M J et FARIH M H. 2010. L'infertilité masculine : physiopathologie, bilan et prise en charge. *Espérance Médicale*. 17 : 421-429.

KHOSHNOOD B, BOUVIER-COLLE M-H, LERIDON H et BLONDEL B. 2008. Impact de l'âge maternel élevé sur la fertilité, la santé de la mère et la santé de l'enfant. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction*. 37 : 733-747.

Références bibliographiques

KUCERA M CRHA I et VASKU A. 2001. Polymorphisme des gènes de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE) et du TNF-bêta chez les hommes souffrant de troubles de la spermatogenèse - étude pilote. *Ceska Gynekol.* 66 : 313-317.

LANSAC J et GUERIF F. 2005. AMP: l'assistance médicale à la procréation en pratique. Paris : Ed. Elsevier Masson.

LARAQUI A. 2006. Étude des Facteurs Métaboliques et Polymorphismes Génétiques Prédiposant à la Survenue de l'Athérosclérose Coronaire. Thèse en ligne pour l'obtention du doctorat biochimie. Rabat : Université Mohammed v-agdal. 197p.

LARSEN U. 2003. Infertility in Central Africa. *Tropical Medicine and International Health.* 8:354-367.

LESOURD F. 2010. Régulation endocrine et paracrine des fonctions ovariennes. *Cours en ligne: Pôle de Gynécologie-Obstétrique et Médecine de la Reproduction CHU Paule de Viguier Toulouse.*

LIAN M, JIANG H, WANG H, et al. 2015. Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion gene polymorphisms is associated with risk of glioma in a Chinese population. *Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System.* 16:443-447.

LINNE Y. 2004. Effects of obesity on women's reproduction and complication during pregnancy. *Obes Rev.* 5:137-143.

LUDOVIC M. 2018. Bilan d'infertilité : quels sont les examens prévus ? *Doctissimo.*

MAÏ AH 2016. Facteur de risque de l'infertilité féminine dans l'ouest de l'Algérie. Thèse de doctorat en Biologie de la reproduction et du développement. Université Djillali Liabes de Sidi Bel-Abbes.

MANSAT A et BENNET P. 1986. Techniques d'examen du sperme. Stage de formation. Toulouse, France : Edition laboratoire de biologie de reproduction du CECOS Midi-Pyrénées.

MARMAR JL, AGARWAL A, PRABAKARAN S, AGARWAL R, SHORT RA, BENOFF S et THOMAS AJ JR. 2007. Reassessing the value of varicocelelectomy as a treatment for male subfertility with a new meta-analysis. *Fertility and sterility.* 88:639-648.

Références bibliographiques

MARMOR D. 2007. Comprendre le spermogramme, le liquide séminal: volume, pH, viscosité. *Abstract Gynécologie*. 320:6-7.

MASCARENHAS MN, CHEUNG H, MATHERS CD et STEVENS GA. 2012. Measuring infertility in populations: constructing a standard definition for use with demographic and reproductive health surveys. *Population Health Metrics*. 10:1-170.

MAYA NM, FLAXMAN SR, BOERMA T, VANDERPOEL S et STEVENS GA. 2012. Tendances nationales, régionales de l'infertilité: analyse systématique de 277 enquêtes de santé. *PLoS Med*. 9:e1001356.

MIHM M, GANGOOLY S et MUTTUKRISHNA S. 2011. Le cycle menstruel normal chez les femmes. *Anim Reprod Sci*. 124:229-36.

MMBAGA N et LUK J. 2012. The impact of preconceptional diet on the outcome of reproductive treatments. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 24:127-131.

MOHANTY R et DAS PK. 2010. A search for operation of Natural selection in ABO blood Groups: Evidences from four Ethnic Groups of Orissa. *Anthropologist*. 12:1-11.

MOLTZ L, LEIDENBERGER F et WEISE C. 1991. Rationelle hormonale Diagnostik der normocyclischen funktionellen Sterilität. *Geburtshilfe Frauenheilkd*. 51:756-768.

NAZZAL N. 2002. Approche biologique et thérapeutique d'infertilité masculine. Thèse de doctorat en médecine. Faculté de médecine. Université d'Annaba, Algérie.

NUGENT BM, STUART AT, HERNAN EL, ALDO BL, MELINDA EW, SERGIO ER et ALFONSO HP. 2012. Programmation hormonale à travers la durée de vie. *Horm Meta Res*. 44:577-586.

ODIBA A, JOSHUA P, UKEGBU C et ONOSAKPONOME I. 2014. A comparative study of the serum levels of Follicle Stimulating Hormone (FSH) and Luteinizing Hormone (LH) during follicular phase in secondary and primary infertile women of reproductive age. *Journal of Dental and Medical Sciences (IOSR-JDMS)*. 13:66-72.

OKTEM O et OKTAY K. 2008. L'ovaire: anatomie et fonction tout au long de la vie humain. *Ann N Y Acad Sci*., 1127:1-9.

Références bibliographiques

OLIVENNES F, HAZOUT A et FRYDMAN R. 2006. Assistance médicale à la procréation. Elsevier Masson.

OUNIS. 2014. Les anomalies morphologiques responsables des infertilités masculines : aspect épidémiologique et génétique. Thèse de doctorat : Biologie et Santé : Université Constantine1.

PALMER N O, BAKOS H W, FULLSTON T et LANE M. 2012. Impact de l'obésité sur la fertilité masculine, la fonction du sperme et la composition moléculaire. *Spermatogenèse*. 2:253-263.

PAN PP, QI-TAO ZHAN, FANG LE, YING-MING ZHENG et FAN JIN. 2013. les enzymes de conversion de l'angiotensine jouent un rôle dominant dans la fertilité. *Int J Mol Sci*. 14: 21071-21086.

PARENT AS, TEILMANN G, JUUL A, SKAKKEBAEK NE, TOPPARI J et BOURGUIGNON JP. 2003. The timing of normal puberty and the age limits of sexual precocity: variations around the world, secular trends, and changes after migration. *Endocr Rev*. 24:668-693.

PASQUALI R et GAMBINERI A.2006. Metabolic effects of obesity on reproduction. *Reprod Biomed Online*. 12:542-551.

PASQUALOTTO FF, UMEZU FM, SALVADOR M, BORGES E, SOBREIRO BP et PASQUALOTTOE B. 2008. Effect of cigarette smoking on antioxidant levels and presence of Leukocytospermia in infertile men: a prospective study. *Fertil Steril*. 90:278-83.

PEREIRA VM, REIS FM, SANTOS RA, CASSALI GD, SANTOS SH, HONORATO-SAMPAIO K et DOS REIS AM. 2009. Gonadotropin stimulation increases the expression of angiotensin-(1-7) and Mas receptor in the rat ovary *Reprod. Sci*. 16:1165-1174.

POORNIMA S, SUBRAMANYAM K et KHAN IA. 2015. Le polymorphisme par insertion et délétion (I28005D) du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine I est un facteur de risque de l'arthrose chez une population indienne d'Asie. *J. Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. 16:1281-1287.

PONCELET C et SIFER C. 2011. Physiologie, pathologie et thérapie de la reproduction chez l'humain. *Springer-Verlag France*. 693p. ISBN: 2-8178-0060-5.

Références bibliographiques

- RAMLAU-HANSEN C et al. 2007.** Subfecundity in over weight and obese couples. *Hum Reprod.* 22:1634-1637.
- RASHID B et TAYFOOR J. 2013.** Hormonal Study of Primary Infertile Women. *Journal of Zankoy Sulaimani.* 15:137-142.
- RELLA M, ELLIOT JL, REVETT TJ, LNFEAR J, PHELAN A, JACKSON RM, TURNER AJ et HOOPER NM. 2007.** Identification et caractérisation du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine 3 (ACE3): Un nouvel homologue mammifère de l'ACE. *BMC Genomics.* 8:194.
- RIERA-FORTUNY C, REAL JT, CHAVES FJ, MORALES-SUAREZ-VARELA, MORILLAS-ARINO C et HERNANDEZ-MIJARES A. 2005.** La relation entre obésité, amas graisseux abdominal et polymorphisme I/D du gène de l'enzyme de conversion d'angiotensine et son association avec les maladies coronariennes. *Int. J. Obes.* 29:78-84.
- SAKANDE J, KABRE E, EKUE-LIGAN A, OUEDRAOGO HA et SAWADOGO M. 2012.** Relation entre les anomalies du spermogramme et les constituants biochimiques du liquide séminal de sujets consultant pour hypofertilité masculine à Ouagadougou. *Int J Biol Chem Sci.* 6:1167-1178.
- SAMIHA M, ALI H, NEHAD M, FAYEK E et GEHAN S. 2006.** Risk factors for primary and secondary female infertility in Alexandria: A hospital based case control study. *J Med Res Inst.* 27:255-6.
- SARFATI J, YOUNG J et CHRISTIN-MAITRE S. 2010.** Obésité et fertilité de la femme. *Annales d'endocrinologie.* 71:49-53.
- SCHLESINGER MH, WILETS IF et NAGLER HM. 1994.** Treatment outcome after varicocelectomy: a critical analysis. *Urol Clin North Am.* 21:517-29.
- SCHLOSSER J, NAKIB I, CARRE-PIGEON F et STAERMAN F. 2007.** Infertilité masculine : définition et physiopathologie. *Ann Urol.* 41:127-33.
- SCHLOSSER J, NAKIB I, CARRE-PIGEON F et STAERMAN F. 2006.** Infertilité masculine : bilan. *Annales d'urologie.* 40 : 349-354.

Références bibliographiques

SCOTT JR, GIBBS RS, KARLAN BY et HANEY AF. 2003. *Danforth's Obstetrics and Gynecology* 9th Edi. Lippincott Williams & Wilkins Publishers.

SÈEDES L. 2014. Voie de signalisation et gènes cibles de l'AMH dans le tractus génital femelle. Thèse en ligne: Université Paris Sud.

SHAPLA N, CHOWDHURY L, KHAN R, NABI S, SULTANA S et PARVEEN Z. 2015. Évaluation hormonale des femmes stériles à l'hôpital des gardes frontière, Peelkhana, Dhaka. *Journal du Collège médical des forces armées, Bangladesh.* 10:34-38.

SEPANIAK S, FORGES T ET MONNIER-BARBARINO P. 2005. Conséquences du tabac sur la fertilité masculine. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction.* 34:102-111.

SEPANIAK S, FORGES T et MONNIER-BARBARINO P. 2006. Tabac et fertilité chez la femme et l'homme. *Gynécologie Obstétrique et Fertilité.* 34:945-949.

SIREGAR G. 2013. When Myoma Causes Infertility. *Journal of Natural Sciences Research.* 3. N°4.

SERMONDADE N, MASSIN N, BOITRELLE F, J PFEFFER, F EUSTACHE, C SIFER, S CZERNICHOW et LEVY R. 2012b. Paramètres de sperme et fertilité masculine après une chirurgie bariatrique: série de trois cas. *Reprod Biomed Online.* 24:206-210.

STEPHENSON MD. 1996. Frequency of factors associated with habitual abortion in 197 couples *Fertility and Sterility.* 66:24-29.

SU MT, LIN SH et CHEN YC. 2013. Études d'association génétique de gènes ACE et PAI-1 chez des femmes ayant une perte de grossesse récurrente: revue systématique et méta-analyse. *Thromb Haemost.* 109:8-15.

SWAN SH, BRAZIL C, DROBNIS EZ, LIU F, KRUSE RL, et al. 2003a. Geographic differences in semen quality of fertile U.S males. *Environ Health Perspect.* 111:414-420.

SWAN SH, BRAZIL C, DROBNIS EZ, LIU F, KRUSE RL, et al. 2003b. Semen quality in relation to biomarkers of pesticide exposure. *Environ Health Perspect.* 111:1478-1484.

TACHDJIAN G, BRISSET S, COURTOT AM, SCHOËVAERT D et TOSCA L. 2016. Embryologie et histologie humaines. *ELSEVIER MASSON.* 376p. ISBN : 978-2-2947-3779-4.

Références bibliographiques

TCHELOUGOU D. 2013. Hypertension artérielle essentielle : facteurs de risque et polymorphisme des gènes du système rénine angiotensine au Burkina Faso. Pour l'obtention du master 2 en Biologie Moléculaire et Génétique Moléculaire Appliquées : Université de Ouagadougou.

THONNEAU P, MARCHAND S, TALLEC A, FERIAL ML, DUCOT B, LANSAC J, et al. 1991. Incidence and main causes of infertility in a resident population (1.850.000) of three French regions (1988-1989). *Hum Reprod.* 6:811-16.

THIRY M, PONCIN P. 2005. Changement morphologique du nucleoli Durant l'oogenèse chez le poisson téléosté ovipare, *Barbus barbuis* (L). *J Struct Biol.* 152:1-13.

THIBAUT C et LEVASSEUR MC. 2001. La reproduction chez les mammifères et l'homme. Nouvelle édition entièrement refondue et mise à jour. *Ellipses Marketing Editions.* ISBN : 9782729804176.

WAGNER L. 2004. Fertilité de l'homme vieillissant. *Progrès en urologie.* 14:577-82.

WEBER RF, DOHLE GR et ROMIJN JC. 2005. Clinical laboratory evaluation of male subfertility *Advances in clinical chemistry.* 40:317-64.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. 2010. WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen. 5ième édition. *Cambridge University Press, Cambridge, Royaume-Uni.* 140p. ISBN : 9-2415-4778-2.

ZALATA AA, MORSY HK et BADAWY AEL-N. 2012. Associations séminales de polymorphisme d'insertion/suppression de gènes ACE chez les hommes stériles. *J. Urol.* 187:1776-1780.

ZEGHIB F. 2009. Les infertilités masculines : étude cytologique et biochimique. *Thèse en ligne* : université des frères Mentouri - Constantine 1.

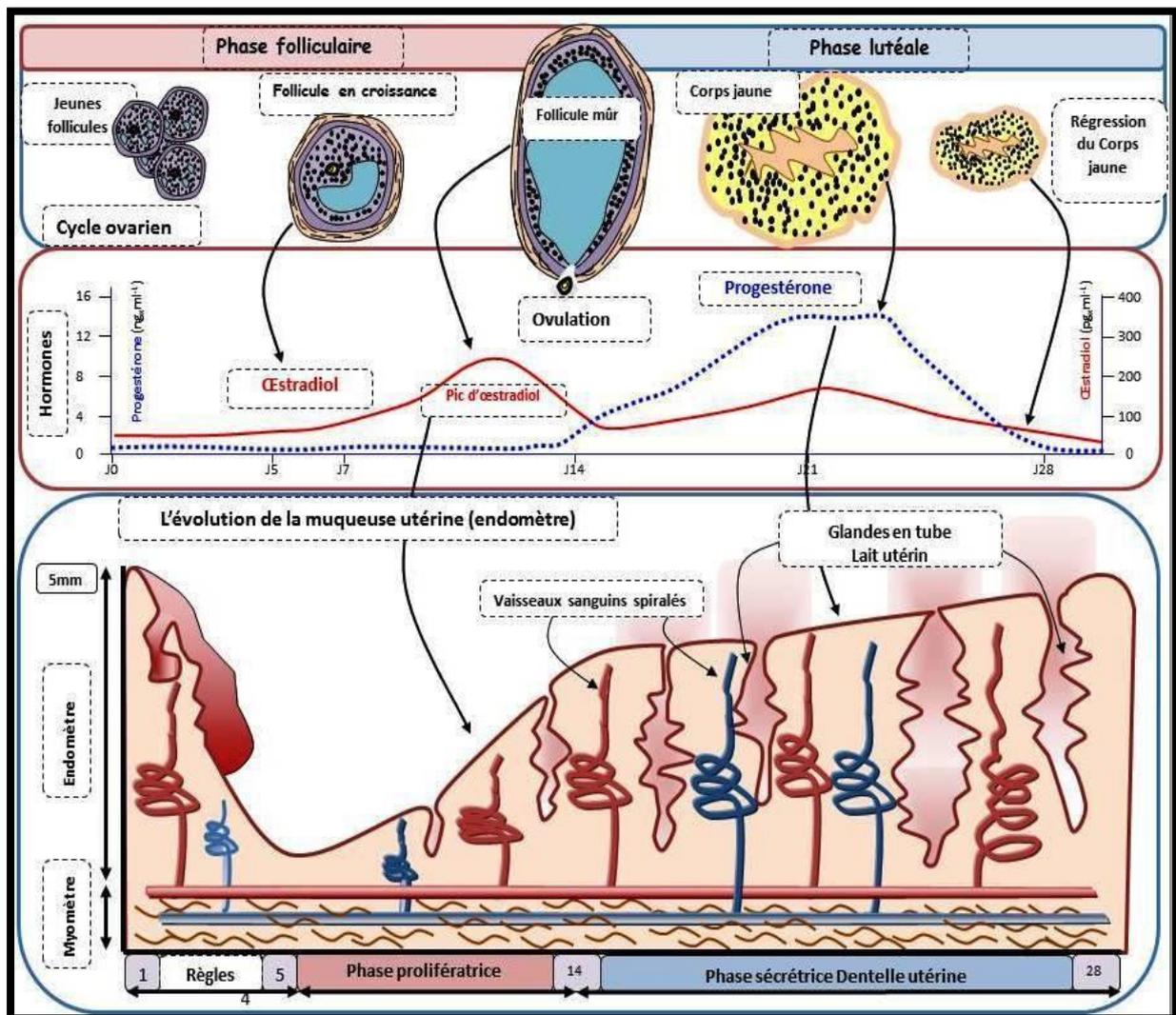
ZIANI S. 2017. Analyse comparative de la distribution des fréquences génotypiques et alléliques des systèmes sanguins ABO et Rhésus dans différentes localités d'Algérie. Mémoire Master : génétique appliquée. Université Abderrahmane Mira de Bejaia.

ZORN JR et SAVALE M. 2005. Stérilité du couple. Paris : Ed. Elsevier Masson. ISBN : 9782294015335.

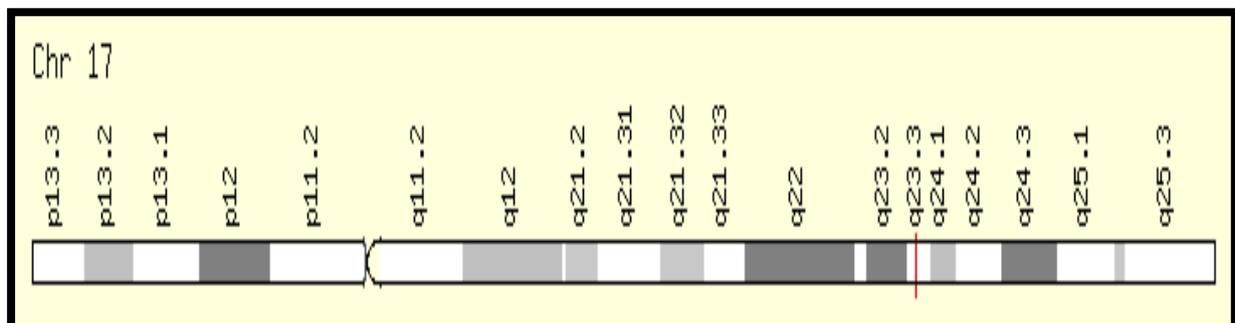
ANNEXES

Annexes

ANNEXE I : Caractéristiques du cycle ovarien (Sèdes, 2014)



ANNEXE II : Localisation du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine sur le chromosome 17 (Saqer *et al.*, 2016)



Annexes

ANNEXE III : Syndromes cliniques et infertilité masculine (Vialard *et al.*, 2009)

Syndrome	Position	Locus du gène
Insensibilité aux androgènes	Xq11-12	AR
Azoospermie (Y-linked)	Yq11	Multiples gènes AZF
Syndrome de Bardett-Biedl	16q21	BBS2
Mucoviscidose (CF)	7q31.2	CFTR
Aplasie congénitale des canaux déférents (CBAVD)	7q31.2	CFTR
Cryptorchidie	19q13.2	INSL3, LGR8-GREAT
Dystrophie myotonique (DM-1)	19q13.2-q13.3	DMPK
X-Fragile (FRAXA)	Wq27.3	FMR-1
Globozoospermie	6q21 6q13.3-2	CAL/GOPC CSNK2A2
Syndrome de Gorlin (PPS)	1q32	Non connu
Kallmann 1 (X-linked) Anosomia	Xp22.3	KAL-1
Kallmann 2 (dominant)	8p11-12	FGFR1
Kallmann 3 (récusif)	Non connu	Non connu
Syndrome de Kartagener	5p15-p14 7p21	DNAH5 DNAH11
Syndrome de McKusick-Kaufman (MKKS)	20p12	MKKS
Syndrome de l'ADN cassure mitochondriale	15q25	POLG
Syndrome de Noonan (NS1)	12q24.1	PTPN11
Syndrome de Prader-Willi (PWS)	15q11-13	SNRPN Ncedin
Syndrome de Rothmund-Thomson (RTS)	8q24.3	RECQL4
Syndrome de Stein-Leventhal (PCO)	15q23-24	CYP11A
Syndrome de Werner (WRN)	8p12-p11.2	RECQL2
Syndrome de Denys-Drash	11p13	WT1

Annexes

ANNEXE IV: Exemple de gènes mutés qui affectent la fonction hypothalamique chez la femme (Bissonnette *et al.*, 2007)

Gène	Locus	Phénotype	Mode de transmission
<i>KAL</i>	Xp22.3	Syndrome de Kallmann, hypogonadisme hypogonadotrophique, anosmie, affecte seulement les hommes	Liée à L'X, récessif
<i>AHC</i>	Xp21	Hypoplasie congénitale des surrénales et hypogonadisme hypogonadotrophique	Liée à L'X, récessif
Leptine	7q31.3	Obésité, hypogonadisme hypogonadotrophique et retard pubertaire	Autosomique récessive
Récepteur de la Leptine	1p31	Obésité, hypogonadisme hypogonadotrophique et leptine sérique élevée	Autosomique récessive

ANNEXE V : Exemple de gènes mutés qui affectent la fonction pituitaire chez la femme (Bissonnette *et al.*, 2007)

Gène	Locus	Phénotype	Mode de transmission
<i>GNRHR</i>	4q21.2	Hypogonadisme hypothalamique	Autosomique récessive
<i>HESX1</i>	3p21.1-21.2	Dysplasie septo-optique	Autosomique récessive
<i>LH-</i>	19q13.3	Déficit en hormone lutéinique	Autosomique récessive
<i>FSH-</i>	11p13	Déficit isolé en hormone stimulatrice des follicules	Autosomique récessive
<i>PROPI</i>	5q	Courte taille, hypothyroïdie et hypogonadisme hypogonadotrophique	Autosomique récessive

Annexes

ANNEXE VI : Exemples de gènes mutés qui affectent la fonction ovarienne (Bissonnette *et al.*, 2007)

Gène	Locus	Phénotype	Mode de transmission
<i>FMRI</i>	Xq27.3	Syndrome du X fragile, insuffisance ovarienne.	Liée à L'X, dominant
<i>FSHR</i>	2p21-p26	Aménorrhée primaire, 50% développent des seins, les hommes présentent une oligospermie.	Autosomique récessive
<i>LHR</i>	2p21	Femme : anovulation. Homme : masculinisation insuffisante.	Autosomique récessive
<i>CYP17</i>	10q24.2	Déficit en 17-hydroxylase, retard pubertaire chez les femmes, absence de développement des seins, aménorrhée primaire et gonadotrophines élevée.	Autosomique récessive
<i>CYP19</i>	15q21.1	Déficiences en aromatasase, ne peut convertir les androgènes en œstrogènes, ambiguïté sexuelle chez les femmes clitoromégalie et absence de développement des seins et aménorrhée.	Autosomique récessive
<i>AIRE</i>	21q22.3	Le syndrome APECED (Auto-immune Polyendocrinopathy Candidiasis Ectodermal Dystrophy), maladie auto-immune multi systémique, insuffisance surrénalienne, ovarienne et testiculaire peut survenir.	Autosomique récessive
<i>FTZF1 (SF1)</i>	9q33	Facteur stéroïdogénique 1, insuffisance surrénalienne, chez l'homme «Sex reversal», présentent un phénotype féminin rare.	Autosomique récessive

Annexes

ANNEXE VII : Questionnaire

Fiche de renseignements : Le couple

Nom : femme.....homme

Prénom : femme.....homme

Age : femmeans, hommeans

Poids : femmeKg, homme.....Kg

Homme : Taille :..... => Obésité : Oui Non

Femme : Taille :..... => Obésité : Oui Non

Groupe sanguin : femme A B AB O

homme A B AB O

Infertilité : primaire secondaire La durée :

Origine : Rurale : Urbain :

N° Tél :

Adresse :

Tabac : Ouicigarettes./ jour Non

Si vous avez arrêté récemment,

Vous avez arrêté depuis plus de 6 mois.

Vous avez arrêté depuis moins de 6 mois.

Où en êtes-vous dans votre parcours de la procréation médicalement assistée (PMA) ?

C'est notre première consultation

Nous sommes en cours de bilan

Je suis en cours de traitement médical (Clomid, progestatifs...)

Nous avons déjà réalisé au moins une tentative d'insémination artificielle

Nous avons déjà réalisé au moins une tentative de fécondation In vitro

Vous a t'on conseillé des produits en vue de favoriser la procréation ? Oui Non

Si OUI, ces produits sont :

Des médicaments

Des vitamines

Des plantes

De l'homéopathie

Autre: (précisez).....

ATCD PMA :

Fécondation in vitro

Induction (stimulation ovarienne)

Insémination artificielle

Fiche de renseignements : La femme

Antécédents

1. Antécédents familiaux :

- | | | | |
|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|---|
| Infertilité primaire : | Oui <input type="checkbox"/> | Non <input type="checkbox"/> | je ne sais pas <input type="checkbox"/> |
| Infertilité secondaire : | Oui <input type="checkbox"/> | Non <input type="checkbox"/> | je ne sais pas <input type="checkbox"/> |
| SAPL : | Oui <input type="checkbox"/> | Non <input type="checkbox"/> | je ne sais pas <input type="checkbox"/> |
| OPK : | Oui <input type="checkbox"/> | Non <input type="checkbox"/> | je ne sais pas <input type="checkbox"/> |
| Avortements spontanés : | Oui <input type="checkbox"/> | Non <input type="checkbox"/> | je ne sais pas <input type="checkbox"/> |
| Ménopause précoce : | Oui <input type="checkbox"/> | Non <input type="checkbox"/> | je ne sais pas <input type="checkbox"/> |
| Cancer du sein : | Oui <input type="checkbox"/> | Non <input type="checkbox"/> | je ne sais pas <input type="checkbox"/> |
| Mucoviscidose : | Oui <input type="checkbox"/> | Non <input type="checkbox"/> | je ne sais pas <input type="checkbox"/> |
| Pathologie thromboembolique : | Oui <input type="checkbox"/> | Non <input type="checkbox"/> | je ne sais pas <input type="checkbox"/> |
| Autres ATCD : | Oui <input type="checkbox"/> | Non <input type="checkbox"/> | je ne sais pas <input type="checkbox"/> |

2. Antécédents personnels :

➤ **ATCD médicaux :**

- OPK Malformations congénitales SAPL Endométriose
- Infertilité tubaire Troubles de l'ovulation Tuberculose
- Infections du post-partum ou du post-abortum Fibromes ou polypes
- Infections après manipulations endo-utérines Dysthyroïdie
- Stérilité idiopathique Maladies sexuellement transmissibles
- Maladies inflammatoires pelviennes: salpingites

➤ **ATCD chirurgicaux**

- Appendicectomie Plasties tubaires Hystéroscopie
- Kystéctomie ovariennes Cœlioscopie
- Chirurgie du col: conisation, laser Autres interventions abdominales

Examen clinique

➤ **Histoire menstruelle**

- A quel âge avez-vous eu vos premières règles ? ans.
- Le cycle =jours
- Quelle est la durée de vos règles ? Jours
- En vue d'augmenter vos chances d'avoir un enfant, privilégiez-vous une période de votre cycle pour avoir des rapports sexuels ? Oui Non
- Hirsutisme Acné
- Autres.....

Annexes

➤ Grossesses antérieures

- L'année.....

Accouchement prématuré Accouchement à terme Interruption volontaire de grossesse Fausse couche (en précisant si c'était le partenaire actuel).

Autres.....

Examens para clinique

1. Biologiques :

- FSH
- LH
- AMH
- Progestérone :....
- Prolactine :...
- Œstradiol.....
- TSH :...
- T4 :...
- T3 :...
- Hémoglobine (Hb) : ...

2. Examens complémentaires :

- Echographie pelvienne:.....
- Hystérosalpingographie (examen des trompes et de l'utérus):.....
- Examen de la glaire cervicale (Test post-coïtal de Hühner) TPC
- Frottis vaginal:.....

Remarque :.....

.....

.....

Annexes

Fiche de renseignements : L'homme

1. Avez-vous déjà eu des enfants avec une autre femme ? Si oui, combien et quand ?
.....
2. votre métier et Milieu et condition de travail?

Antécédents

1. Antécédents familiaux :

- Infertilité primaire : Oui Non je ne sais pas
- Infertilité secondaire : Oui Non je ne sais pas
- Consanguinité: Oui Non je ne sais pas
- Infertilité chez les parents et/ou frères et sœurs : OuiNon je ne sais pas
- Malformations fœtales : Oui Non je ne sais pas
- Autres ATCD : Oui Non

2. Antécédents personnels :

➤ ATCD médicaux :

- Hypogonadisme Ectopie testiculaire Varicocèles
- Troubles de l'érection Diabète Hypertension
- Oreillon Traumatisme testiculaire Problèmes dentaires
- Maladies sexuellement transmissibles
- Epididymite prostatite urétrite cystite Stérilité idiopathique
- Antécédents carcinologiques avec radiothérapie ou chimiothérapie

➤ ATCD chirurgicaux

- Chirurgie pour une torsion du testicule. Chirurgie pour une hernie inguinale
- Chirurgie au niveau du scrotum. Chirurgie pour faire descendre un testicule.
- Opérations prostatiques vésicales urétrales. Orchidectomie
- Autres interventions abdominales.

Examen clinique

- Pilosité Hypoandrisme hypospadias Infection du méat Gynécomastie
- Cicatrices de gestes chirurgicaux (plis inguinaux, scrotum) Une varicocèle
- Aspect gynoïde Eunuchoïde.

Examens para clinique

➤ Spermogramme

Volume (ml)	NB de SPZ (millions/ml)	Vitalité (%)	Mobilité (%)	Morphologie (%)	Classification

Annexes

ANNEXE VIII : Fiche de consentement du patient

République Algérienne Démocratique et populaire
EHS mère et enfant de SIDI MEBROUK
Service de gynécologie obstétrique et de procréation médicale assistée
PMA

Fiche de consentement du patient

Dans le cadre de : Etude génétique de l'infertilité chez des couples

Je soussigné(e) :

Nom :/.....

Prénom :/.....

Déclare avoir puis connaissance des informations explicatives concernant cette étude
j'accepte le prélèvement sous les conditions décrites en gardant tous mes droits stipulés par la
moi d'éthique et de déontologie.

- J'accepte ce type de recherche
 Je m'oppose à ce type de recherche.

En cas de réponse affirmative, je souhaite que les résultats puissent m'être communiqués

- Oui
 Non

Signature du patient

Signature du chercheur

Signature du médecin

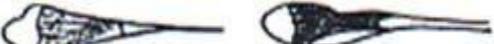
Annexes

ANNEXE IX : Coloration de Papanicolaou

- Après préparation des frottis, les lames sont directement plongées dans deux bains d'alcool à 70° et 80°, 15 seconde pour chacun, puis dans plusieurs bains d'eau distillée ;
- Colorer avec Hématoxyline de Harris (30sec) ;
- Rincer à l'eau distillée pendant 1 min ;
- Plonger les lames dans la solution d'eau ammoniacale (1min) ;
- Rincer couramment à l'eau distillée ;
- Passer rapidement dans deux bains d'alcool à 70°, un bain d'alcool à 80° et un bain d'alcool à 95° (10 fois pour chacun) ;
- Colorer les lames par la solution d'Orange G6 (5min) ;
- Passer rapidement (10 fois) dans deux bains d'alcool à 95° ;
- Colorer les lames par la solution polychrome EA50 (5min) ;
- Passer rapidement (10 fois) dans deux bains d'alcool à 95°, puis dans un bain d'alcool absolu ;
- Passer les lames (10 fois) dans un bain de xylène ;
- Monter les lames.

Annexes

Annexe X : Classification de David 1975 des anomalies morphologiques des spermatozoïdes (Mansat et Bennet, 1986)

• Les anomalies de la tête	
Formes allongées	
Simple	
Base amincie	
Battant de cloche	
Effilé	
Formes amincies	
	
Microcéphales	
	
Macrocéphales	
	
Dupliquées	
	
Formes irréguliers	
Contour irrégulier	
Acrosome mal formé	
Sans acrosome	
Forme en lyse	
	
• Les anomalies de la pièce intermédiaire	
Restes cytoplasmiques	
	
Angulation	
	
• Les anomalies du flagelle	
Flagelles absents	
	
Flagelles courts	
	
Flagelles enroulés	
	
Flagelles doubles	
	

ANNEXE XI : Fiche technique de PureSperm® 40/80 et PureSperm® Wash

PureSperm® 40/80

Application envisagée

PureSperm® 40/80 est un gradient de densité discontinu à double couche, qui sépare efficacement le sperme humain.

Composants

Silice avec revêtement de silane	Glucose
Chlorure de Sodium	Citrate
Chlorure de Potassium	Lactate
L'eau purifiée	Pyruvate
HEPES	
EDTA	

Caractéristiques

pH	7,4-7,8
Osmolalité (mOsm/kg H ₂ O)	300-310
Transfert d'endotoxine pendant le traitement	<1,0 EU/ml
Survie du sperme 18 heures après séparation par gradient de densité	>70 %

Les flacons et bouchons sont soumis à un test MEA.

Conservation et stabilité

Conserver les flacons fermés entre 2 et 40 °C, et éviter les températures en-dehors de cette plage. Dans ces conditions, PureSperm® 40 et PureSperm® 80 ont une durée de conservation de 24 mois. La date d'expiration est indiquée sur les flacons et les cartons.

Ouvrir et fermer les flacons dans des conditions d'asepsie. Après ouverture, conserver entre 2 et 8 °C les bouteilles non utilisées. La durée de conservation sur l'étiquette est valable lorsque le produit est conservé conformément aux recommandations du fabricant.

Aucun antibiotique, additif instable ou conservateur n'a été ajouté par le fabricant à PureSperm® 40 ni à PureSperm® 80.

Précautions et avertissements

- Lors de la récupération de la granule de sperme, suivre les instructions figurant sur la notice du produit afin d'éviter toute contamination par inadvertance.
- Appliquer toujours des procédures aseptiques.
- Si des seaux scellés sont disponibles, les utiliser pendant la centrifugation pour éviter la création d'aérosols.
- Nettoyer les pertes accidentelles à l'aide d'un chiffon ou d'un papier humide. PureSperm®40/80 rend les sols et les paillasses extrêmement glissants.
- PureSperm®40/80 ne présente aucun risque d'incendie ou de combustion. Une fiche de données de sécurité peut être obtenue auprès du distributeur ou du fabricant (voir nidacon.com)
- Ne pas utiliser de solution montrant une contamination bactérienne. Ou si bouchon vient accidentellement en contact avec les surfaces non stériles.
- Ne pas réutiliser.
- Ne pas utiliser le contenu si le bouchon prouvant l'intégrité est brisé.
- Pas de drogue, d'entretien ou autres usages. Éviter l'ingestion et le contact avec les yeux.
- La Federal Law des Etats-Unis restreint la vente de ce dispositif aux médecins ou sur ordonnance.
- Vérifier la légalité de l'utilisation des produits des techniques de reproduction assistée dans votre pays.



www.nidacon.com

Pour de plus amples informations ou une aide, contactez votre distributeur ou le fabricant.

Commandes

Volume	N° article
20 ml PS40, 20 ml PS80	PSK-020
100 ml PS40	PS40-100
100 ml PS80	PS80-100



0434

le fabricant:

Nidacon, Flöjelbergsgatan 16 B, SE-431 37 Mölndal, Sweden
Tel: +46-31-703 06 30, Fax: +46-31-40 54 15
E-mail: contact@nidacon.com, www.nidacon.com



Nidacon

PureSperm® Wash

Application envisagée

Par lavage de granules de spermatozoïdes par gradient de densité de PureSperm, pour les préparations par swim-up, pour l'extension de la durée de vie des spermatozoïdes avant insémination intra-utérine ou comme milieu de conservation

Composants

Chlorure de Sodium	L'eau purifiée
Chlorure de Potassium	Glucose
Sulfate de Magnésium	Lactate de Calcium
Bicarbonate de Sodium	Pyruvate de Sodium
Dihydrogène phosphate de potassium	Citrate de Sodium
Bicarbonate de Sodium	EDTA
hSA sérum albumine humaine	HEPES

Caractéristiques

pH	7.3-8.5
Osmolalité (mOsm/kg H ₂ O)	290-300
Niveaux d'endotoxine	<1,0 EU/ml
Survie du sperme 18 heures après séparation par gradient de densité	>70 %

Les flacons et bouchons sont soumis à un test MEA.

Conservation et stabilité

Conservé les flacons fermés entre 2 et 30 °C, et éviter les températures en-dehors de cette plage. Dans ces conditions, PureSperm® Wash a une durée de conservation de 12 mois. La date d'expiration est indiquée sur les flacons et les cartons.

Ouvrir et fermer les flacons dans des conditions d'asepsie. Après ouverture, conserver entre 2 et 8°C les bouteilles non utilisées. La durée de conservation sur l'étiquette est valable lorsque le produit est conservé conformément aux recommandations du fabricant. Aucun antibiotique, additif instable ou conservateur n'a été ajouté par le fabricant à PureSperm® Wash.

Précautions et avertissements

- Appliquer toujours des procédures aseptiques.
- Si des seaux scellés sont disponibles, les utiliser pendant la centrifugation pour éviter la création d'aérosols.
- PureSperm® Wash ne présente aucun risque d'incendie ou de combustion. Une fiche de données de sécurité peut être obtenue auprès du distributeur ou du fabricant (voir nidacon.com).
- Ne pas utiliser de solution montrant une contamination bactérienne. Ou si bouchon vient accidentellement en contact avec les surfaces non stériles.
- Ne pas utiliser le contenu si le soseau prouvant l'intégrité est brisé.
- Ne pas réutiliser.
- La Federal Law des Etats-Unis restreint la vente de ce dispositif aux médecins ou sur ordonnance.
- Vérifier la légalité de l'utilisation des produits des techniques de reproduction assistée dans votre pays.

Les mesures habituelles de prévention des infections résultant de la utilisation de médicaments préparés à partir de sang humain ou plasma incluent la sélection des donneurs, le dépistage de l'individu dons et des mélanges de plasma pour des marqueurs spécifiques d'infection et l'inclusion de la fabrication efficace les étapes pour le inactivation/ élimination des virus. Malgré cela, quand médicinale produits préparés à partir de sang ou de plasma humain sont administrés, la possibilité de transmission d'agents infectieux ne peut pas être totalement exclue. Cela vaut également pour inconnus ou émergents les virus et autres agents pathogènes.

Il n'y a pas de rapports de transmissions de virus éprouvées avec de l'albumine fabriqué aux spécifications de la Pharmacopée européenne par des procédés établis.

Il est fortement recommandé que chaque PureSperm®Wash de temps est administré à un patient, le nom et le numéro de lot le produit sont enregistrées afin de maintenir une liaison entre le patient et le lot du produit

le fabricant:

Nidacon, Flöjelbergsgatan 16 B, SE-431 37 Mölndal, Sweden
Tel: +46-31-703 06 30, Fax: +46-31-40 54 15
E-mail: contact@nidacon.com, www.nidacon.com



Annexes

ANNEXE XII : Technique d'extraction d'ADN

➤ Préparation des leucocytes

- Dans un tube Falcon de 50 ml ; on a mis du sang total (5-7 ml).
- Puis on a complété jusqu'au volume de 45 ml avec du TE (TRIS + EDTA) 20 :5.
- On a laissé le mélange 10 min dans le bain de glace.
- Centrifugation pendant 10 min à 3900 g (3900 rpm).
- On a déversé le surnageant avec une grande prudence afin de garder le culot leucocytaire précipité au fond de tube.
- On a rajouté le TE 20 :5 au culot jusqu'à 25-30 ml, on a agité pour le remettre en suspension et laisser 10 min dans la glace.
- On a effectué une centrifugation dans les mêmes conditions précédentes.
- On a déversé le surnageant pour obtenir un culot de leucocytes.

➤ Extraction d'ADN

- On a dilacéré le culot de leucocytes soigneusement afin de les prendre complètement et les mettre dans un tube Falcon conique de 15 ml.
- On a ajouté 200 µl de SDS à 10 % (détruire les membranes et libérer l'ADN).
- On a ajouté 100 µl de protéine K (PK) à 10 mg/ml (purification du mélange).
- Dans l'étuve, on a agité les tubes dans une roue rotative à 37°C pendant une nuit.
- Le lendemain, on les a fait refroidir dans le bain de glace.
- On a ajouté 1 ml de NaCl 4 M et on a agité rigoureusement à la main.
- On a remis les tubes 5 min dans la glace (précipitation des protéines).
- Centrifuger pendant 15 min à 2500 rpm.
- On a transvasé le surnageant dans un tube Falcon de 50 ml, et puis on a ajouté 2 fois son volume d'éthanol absolu (100 %) préalablement refroidi et on a agité en tournant le tube plusieurs fois : **la pelote d'ADN s'est formée** visible à l'œil nu (on laisse le tube éventuellement 30 min à -20°C si la pelote d'ADN ne se forme pas)
- on récupère la pelote d'ADN par une pipette pasteur et la rince 2 fois dans l'éthanol à 70 % dans un tube *Eppendorf* stérile.

Annexes

➤ Solubilisation de l'ADN

- Ajouter entre 300 et 1000 µl d'eau bi distillée stérile selon la grosseur de la pelote.
- Laisser une nuit sur agitateur rotateur à 37°C, puis à température ambiante jusqu'à dissolution complète (1 à 2 jour).

➤ Préparation des solutions utilisées pour l'extraction d'ADN

TE 20 :5 : (Tris 20 mM, EDTA 5 mM, pH 7.5) auto clavé

- Tris : 2,422 g/l.
- EDTA : 1,86 g/l.
- Ajuster le pH avec HCL 1 N.

Tampon de lyse :

- NaCl 400 mM.
- EDTA 2 mM.
- Tris 10 mM.
- pH 8,2.

ANNEXE XIII : Préparation du TBE 10X et 1X

On prépare :

1. TBE 10X

- Tris 108 g.
- Acide borique 55 g.
- Ajuster le PH à 8,3 avec l'acide acétique glacial.
- EDTA 9.3 g.
- QSP H₂O pour 1L.

Puis On fait une déléction pour obtenir un TBE 1X.

2. TBE 1X

- 100 ml de TBE 10X.
- 900 ml H₂O.

Résumés

Résumé

L'infertilité, définie comme l'incapacité de concevoir après un an de rapports sexuels réguliers et non protégés, est un problème de santé qui a un impact réel dans le monde entier. Un couple sur dix est confronté à une infertilité primaire ou secondaire à l'échelle mondiale. Depuis quelques années un intérêt particulier avait été accordé au polymorphisme du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (*ECA*).

L'objectif de notre étude était de préciser les caractéristiques démographiques, topographiques, phénotypiques et d'examiner d'éventuelles associations entre le polymorphisme génétique I/D du gène *ECA* et l'infertilité du couple, chez des candidats programmés pour une insémination artificielle.

Méthodes : Sur un total de 50 couples ayant participé à cette étude, les 100 patients infertiles candidats pour IAC (groupe 1) ont été comparés à 55 témoins (groupe2). Après l'extraction de l'ADN leucocytaire, la séquence d'intérêt avait été amplifiée par PCR directe et analysée par électrophorèse.

Résultats : la moyenne d'âge chez les hommes est de 39,3 ans avec des extrêmes de 28 ans à 58 ans. Par ailleurs, chez les femmes, elle est de 33,4 ans avec des extrêmes de 21 ans à 45 ans.

Dans notre étude, les trois génotypes sont représentés avec des fréquences génotypiques et alléliques variables ; Après calcul de l'OR et de la *p-value*, les résultats ont montré une association positive entre les deux groupes ($p = 0,0004$ pour DD versus II+DI ; $p = 0,00009$ pour II versus DI et $p = 0,039$ pour I versus D).

Dans notre échantillon, une association significative entre polymorphisme du gène *ECA* et l'obésité, le SOPK, l'OATS chez les individus infertiles a été observée.

Conclusion : L'étude génétique avait révélé une association significative entre le polymorphisme I/D du gène *ECA* et l'infertilité dans la population algérienne. Des études ultérieures de la relation entre le polymorphisme étudié et la concentration plasmatique de cette dernière seront nécessaires afin de mieux comprendre le rôle des différents génotypes dans l'infertilité, ainsi des études moléculaires à plus grande échelle doivent être menées pour clarifier l'impact de ce polymorphisme.

ملخص

يعد العقم، الذي يُعرف بأنه عدم القدرة على الحمل بعد عام واحد من ممارسة الجنس المنتظم وغير المحمي، مشكلة صحية لها تأثير حقيقي في جميع أنحاء العالم. واحد من كل عشرة أزواج يعانون من العقم الأولي أو الثانوي في جميع أنحاء العالم. في السنوات الأخيرة ، تم إيلاء اهتمام خاص لتعدد الأشكال من الجين لإنزيم تحويل الأنجيوتنسين ACE . كان الهدف من دراستنا هو تحديد الخصائص الديموغرافية والطوبوغرافية والظواهر الوراثية ودراسة الارتباطات الممكنة بين الأشكال الوراثية I / D لجين ECA وعقم الزوجين ، في المرشحين المبرمجين للتلقيح الاصطناعي. الطريقة: من بين ما مجموعه 50 الأزواج الذين شاركوا في هذه الدراسة ، وتمت مقارنة 100 مريض يعانون من العقم ل IAC (المجموعة 1) إلى 55 الضوابط (المجموعة 2). بعد استخراج الحمض النووي لكريات الدم البيضاء ، تم تضخيم تسلسله عن طريق PCR المباشر (تفاعل البلمرة المتسلسل) وتحليلها بواسطة رحلان كهربائي. النتائج: يبلغ متوسط عمر الرجال 39.3 عامًا مع وجود 28 عامًا و 58 عامًا. بالمناسبة، في النساء 33.4 سنة مع 21 سنة و 45 سنة.

في دراستنا ، يتم تمثيل الأنماط الجينية الثلاثة بترددات وراثية وأليلية متغيرة. بعد حساب OR والقيمة p ، أظهرت النتائج وجود علاقة إيجابية بين المجموعتين (ع = 0.0004 ل DD مقابل DI + II ، ع = 0.00009 للثاني مقابل DI و P = 0.039 ل I مقابل د).

في أخذ العينات لدينا ، وجود ارتباط كبير بين وجود تعدد الأشكال الجينية ECA والسمنة ، متلازمة تكيس المبايض ، OATS في الأفراد المصابين بالعقم.

الخلاصة: كشفت الدراسة الجينية وجود علاقة معنوية بين تعدد الأشكال I / D للجين ECA والعقم عند السكان الجزائريين. ستكون هناك حاجة إلى مزيد من الدراسات حول العلاقة بين تعدد الأشكال الجينية للتركيز ECA وتركيز البلازما لفهم دور الشفرة الوراثية المختلفة بشكل أفضل في العقم ، لذلك يلزم إجراء دراسات جزيئية واسعة النطاق من أجل توضيح تأثير هذه الأشكال.

ABSTRACT

Infertility, defined as the inability to conceive after one year of regular and unprotected sex, is a health problem that has a real impact worldwide. One in ten couples experience primary or secondary infertility worldwide. In recent years, particular interest has been given to the polymorphism of the gene for angiotensin converting enzyme (ACE).

The objective of our study was to specify the demographic, topographical, and phenotypic characteristics and to examine possible associations between the genetic polymorphism I / D of the ECA gene and the infertility of the couple, in candidates programmed for artificial insemination.

Methods: Out of a total of 50 couples who participated in this study, the 100 infertile patients for IAC (group 1) were compared to 55 controls (group2). After the extraction of the leucocyte DNA, the sequence of interest was amplified by direct PCR (polymerase chain reaction) and analyzed by electrophoresis.

Results: The average age for men is 39.3 years with extremes of 28 years and 58 years. By the way, in women is 33.4 years with extremes of 21 years and 45 years.

In our study, the three genotypes are represented with variable genotypic and allelic frequencies. After calculating OR and p-value, the results showed a positive association between the two groups ($p = 0.0004$ for DD versus II + DI, $p = 0.00009$ for II versus DI and $p = 0.039$ for I versus D).

In our sampling, a significant association between the presence of ECA gene polymorphism and obesity, PCOS, OATS in infertile individuals.

Conclusion: The genetic study revealed a significant association between the I/D polymorphism of the ECA gene and infertility in the Algerian population. Further studies of the relationship between ECA gene polymorphism and plasma concentration will be needed to better understand the role of different genotypes in infertility, so larger scale molecular studies need to be conducted to clarify the impact of this polymorphism.

Année universitaire : 2018-2019

Présenté par : GUENDOUZI Afnane
HAMI OUDA Imene

Implication du polymorphisme I/D du gène *ECA* chez des couples infertiles candidats pour une insémination artificielle (IAC)

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

L'infertilité, définie comme l'incapacité de concevoir après un an de rapports sexuels réguliers et non protégés, est un problème de santé qui a un impact réel dans le monde entier. Un couple sur dix est confronté à une infertilité primaire ou secondaire à l'échelle mondiale. Depuis quelques années un intérêt particulier avait été accordé au polymorphisme du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (*ECA*).

L'objectif de notre étude était de préciser les caractéristiques démographiques, topographiques, phénotypiques et d'examiner d'éventuelles associations entre le polymorphisme génétique I/D du gène *ECA* et l'infertilité du couple, chez des candidats programmés pour une insémination artificielle.

Méthodes : Sur un total de 50 couples ayant participé à cette étude, les 100 patients infertiles candidats pour IAC (groupe 1) ont été comparés à 55 témoins (groupe 2). Après l'extraction de l'ADN leucocytaire, la séquence d'intérêt avait été amplifiée par PCR directe et analysée par électrophorèse.

Résultats : la moyenne d'âge chez les hommes est de 39,3 ans avec des extrêmes de 28 ans à 58 ans. Par ailleurs, chez les femmes, elle est de 33,4 ans avec des extrêmes de 21 ans à 45 ans.

Dans notre étude, les trois génotypes sont représentés avec des fréquences génotypiques et alléliques variables ; Après calcul de l'OR et de la *p-value*, les résultats ont montré une association positive entre les deux groupes ($p = 0,0004$ pour DD versus II+DI ; $p = 0,00009$ pour II versus DI et $p = 0,039$ pour I versus D).

Dans notre échantillon, une association significative entre polymorphisme du gène *ECA* et l'obésité, le SOPK, l'OATS chez les individus infertiles a été observée.

Conclusion : L'étude génétique avait révélé une association significative entre le polymorphisme I/D du gène *ECA* et l'infertilité dans la population algérienne. Des études ultérieures de la relation entre le polymorphisme étudié et la concentration plasmatique de cette dernière seront nécessaires afin de mieux comprendre le rôle des différents génotypes dans l'infertilité, ainsi des études moléculaires à plus grande échelle doivent être menées pour clarifier l'impact de ce polymorphisme.

Mots-clés : enzyme de conversion de l'angiotensine (*ECA*), infertilité du couple, polymorphisme de l'ID, Infertilité masculine, Infertilité féminine.

Laboratoires de recherche : Laboratoire de biologie et génétique moléculaire

Président du jury : Pr SATTA Dalila (Professeur - Université des Frères Mentouri, Constantine 1).

Rapporteur : Dr DA OUI Zineb (MC.B - Université Mostefa Ben Boulaïd, Batna 2).

Examineur : Dr CHELLAT Djalila (MC.A- Université des Frères Mentouri, Constantine 1).