

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 الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة والحياة  
قسم بيولوجيا الحيوان

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

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

N° d'ordre :  
N° de série :

Intitulé :

---

**Implication du polymorphisme I/D du gène *HLA-G* dans  
L'infertilité féminine idiopathique**

---

Présenté et soutenu par : DAOUI Aya  
HACINI Sarah

Le 15/07/2021

**Jury d'évaluation :**

**Président :** SATTI Dalila (Prof-UFM, Constantine 1).

**Rapporteur :** CHELLAT-REZGOUNE Djalila (Prof-UFM, Constantine 1).

**Examineur :** REZGOUNE Mohamed Larbi (MCA- UFM, Constantine 1).

**Année universitaire**

**2020/2021**

## *Remerciements*

*En premier lieu, nous remercions le bon Dieu tout puissant qui nous a éclairé tout le long  
parcourt de notre étude et nous a donné le courage et la force et la patience pour bien mener  
notre projet de fin d'étude*

*Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements*

*A notre Encadrant, professeur CHELLAT Djalila*

*qui nous a fait l'honneur de diriger ce projet de fin d'étude avec bienveillance. Merci d'avoir  
pris du temps pour nous. Que vous trouviez ici le témoignage de notre profond respect et de  
notre grande gratitude.*

*Aux membres du jury ;*

*Au Professeur SATTI Dalila*

*Merci infiniment d'avoir accepté de présider ce jury. Merci pour l'intérêt que vous avez porté  
à ce travail. Votre jugement sera d'une grande valeur par l'appréciation de ce travail.*

*A Monsieur REZGOUNE Mohamed Larbi*

*Qui a fait l'honneur de faire partie de notre jury de notre projet de fin d'étude. Votre  
présence, votre savoir et votre grande expérience vont ajouter incontestablement une valeur  
scientifique à ce travail. Veuillez trouver ici l'expression de notre profonde reconnaissance.*

*Merci infiniment.*

**Tous les mots du monde ne pourraient suffire pour exprimer mes sentiments d'amour et de reconnaissance envers vous.**

*A ma famille,*

***A Mon très cher Père Mr Abdelmalek HACINI***

*Vous m'avez toujours poussé et motivé dans mes études, pour ton soutien éternel j'espère que vous appréciez ce geste humble, et ton amour inconditionnel :comme preuve de reconnaissance et d'amour de votre fille unique ,*

***A Ma très chère Maman Mme Aicha*** Aucune dédicace ne saurais exprimer mon profond respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez déployé pour mon éducation et mon instruction.

*Je vous remercie pour votre soutien dans des moments difficiles et pour votre amour que vous me portez depuis mon existence. Quoi que je fasse je ne saurais comment vous remercier,*

*Que le grand Dieu vous protège et vous donne santé et longue vie.*

***A mes chers frères***

***ZOHEIR-ROSTOM-RACIM***

***Je dédie ce travail spécialement :***

***A mon cher mari, Abderrahim OUADAH,*** d'avoir été tellement patient, d'avoir compris à quel point c'était important pour moi d'accomplir mes études et de m'avoir toujours soutenu, et dans les moments les plus durs de ma vie.

*Merci pour ton accompagnement continu, ta tendresse et ton dévouement.*

***A mes chers adorables enfants, Souha-Mouad –Mouine***

*Je vous aime.*

***A mes chères amies :***

***A Rokia et Hiba ;*** Nous avons vécu et partagé tellement de moments et d'événements que vous faites partie intégrante de ma famille.

***A Ferial,*** sœurlette mille merci Pour ton soutien et ta patience.

# Table des matières

## Remerciements et dédicaces

## Liste des abréviations

## Liste des figures

## Introduction 1

## Etude Bibliographique

<b>I- Anatomie et physiologie</b>	<b>3</b>
1. Fertilité naturelle de la femme.....	3
1.1. Anatomie de l'appareil reproducteur de la femme.....	3
1.2. Phases du cycle reproducteur de la femme.....	5
2. Fécondation.....	6
3. Cytotrophoblaste ou futur placenta.....	6
3.1 Evolution du placenta.....	7
3.2 Circulation placentaire.....	8
<b>II-Infertilité féminine</b>	<b>9</b>
1. Epidémiologie.....	9
2. Classification.....	9
3. Infertilité féminine idiopathique.....	10
4. Causes possibles de l'infertilité féminine.....	10
<b>III-Immunologie de la grossesse</b>	<b>16</b>
1. Placenta et grossesse.....	17
1.1. Rôles du placenta.....	17
1.2. Immunologie du placenta.....	18
2. Tolérance à l'interface fœto-maternelle.....	18
2.1. Cellule immunitaire à l'interface fœto-maternelle.....	19
3. Généralités sur l'HLA-G.....	20
3.1. Présentation du système HLA.....	20
3.2. HLA G : Molécule du CMH.....	22
3.3. Polymorphisme de HLA-G.....	23
3.4. Association du polymorphisme génétique HLA-G avec la fécondation in vitro.....	25
3.5. Association génotype/expression/maladie HLA-G.....	26
3.6. Expression et régulation de HLA-G.....	27
4. HLA-G en situation physiologique de grossesse.....	28
5. HLA-G et infertilité.....	29
<b>IV- Prise en charge de l'infertilité idiopathique</b>	<b>30</b>
1. Insémination intra utérine.....	30
2. La fécondation in vitro.....	31

## Méthodologie

<b>I. Patientes et témoins</b>	<b>33</b>
1. Recrutement des patientes.....	33
1.1. Critères d'inclusion.....	33
1.2. Critères d'exclusion.....	33
2. Recrutement des témoins.....	33
3. Collecte des données.....	33
<b>II. Etude moléculaire</b>	<b>33</b>
1. Extraction d'ADN.....	33
1.1 Prélèvement sanguin.....	34
1.2 Principe de l'extraction d'ADN.....	34
2.Génotypage d'HLA G.....	34
2.1 Amplification par PCR du gène.....	34
3. Etude statistique.....	37

## Résultats et discussion

<b>I. Caractéristiques épidémiologiques</b>	<b>38</b>
1. Age.....	38
2. Indice de masse corporelle (IMC).....	39
3. Groupes sanguins.....	40
5. Type d'infertilité.....	42
6. Age de puberté.....	43
7. Antécédents familiaux.....	46
8. Antécédents médicaux personnels.....	48
9. Antécédents chirurgicaux.....	49
10. Antécédents obstétricaux.....	49
11. Profil hormonal.....	50
<b>II-Résultats de l'analyse moléculaire du polymorphisme I/D du gène HLA-G</b>	<b>53</b>
1. Fréquences génotypiques et alléliques.....	53
<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>57</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>58</b>
<b>Annexes</b>	
<b>Résumés</b>	

## Liste des abréviations

<b>A-cl :</b>	Anti-Cardiolipines
<b>AMH :</b>	Hormone Anti-Müllérienne
<b>AMP :</b>	Assistance médicale à la procréation
<b>APCs :</b>	Cellules présentatrice d'antigènes
<b>Ape :</b>	Phosphatidyléthanolamine
<b>Apl :</b>	Anti-Phospholipides
<b>Apt :</b>	Anti-Prothrombine
<b>ARNm :</b>	Acide ribonucléique messager
<b>ARNmi :</b>	Micro ARN
<b>ASRM :</b>	<i>American Society for Reproductive Medicine</i>
<b>A-B2gp1 :</b>	Anti-Bêta-2-Glycoprotéine 1
<b>BAFF/Blys :</b>	B-Cell Activating Factor/ B Lymphocyte Stimulator
<b>CDC :</b>	Centers Of Disease Control And Prevention
<b>CMH :</b>	Complexe majeur d'histocompatibilité
<b>CTEV :</b>	Cytotrophoblaste extra villosus
<b>CTEV :</b>	Cytotrophoblaste Extravillosus
<b>Del</b>	Délétion
<b>Ins</b>	Insetion
<b>ELISA :</b>	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
<b>ESHRE:</b>	<i>European Society of Human Reproduction and Embryology</i>
<b>EVT :</b>	Trophoblaste extravillosus
<b>FIV :</b>	Fécondation In Vitro
<b>FIV:</b>	Fécondation In Vitro
<b>FIV-ET :</b>	Transferts d'embryons par la FIV

<b>FSH :</b>	Follicle Stimulating Hormone
<b>GM-CSF :</b>	Facteur de stimulation des colonies de granulocytes et de macrophages
<b>hCG:</b>	<i>(human Chorionic Gonadotropin)</i>
<b>HLA:</b>	Human Leukocyt Antigen
<b>HLA-G :</b>	Human Leucocyte Antigen-G
<b>HPL :</b>	<i>(Human Placenta lactogen).</i>
<b>HSG :</b>	Hystérosalpingographie
<b>ICSI :</b>	Injections Intra-Cytoplasmiques des Spermatozoïdes
<b>IDO :</b>	Indoleamine 2,3-dioxygénase
<b>IIU :</b>	Inséminations intra-utérines
<b>ILT-2 :</b>	Interleukine 2
<b>ILT-4:</b>	Interleukine 4
<b>IO :</b>	Insuffisance Ovarienne
<b>IRM :</b>	Imagerie Par Résonance Magnétique
<b>KIR:</b>	killer inhibitor receptor
<b>KIR2DL4:</b>	Killer cell immunoglobulin-like receptor 2DL4
<b>LES :</b>	Lupus Erythémateux Systémique
<b>LES :</b>	Lupus Erythémateux Systémique
<b>LH :</b>	Hormone Lutéinisante
<b>LH:</b>	<i>Luteine Hormone</i>
<b>NICE:</b>	<i>National Institute for Health and Care Excellence</i>
<b>NK :</b>	<i>Naturel killer</i>
<b>RIF :</b>	Echec d'implantation récurrent
<b>SAPL :</b>	Syndrome Des Anticorps Anti-Phospholipides
<b>sHLA-G :</b>	HLA-G soluble

**SOPK :** Syndrome des Ovaires Polykistiques

**UTR :** Untranslated Region

## Liste des figures

<b>Figure 1</b>	Appareil génital féminin.....	<b>4</b>
<b>Figure 2</b>	Schéma représentant le follicule et l'ovocyte en développement dans le cortex ovarien.....	<b>5</b>
<b>Figure 3</b>	Représentation schématique du placenta.....	<b>8</b>
<b>Figure 4</b>	Schéma représentant le complexe hypothalamo-hypophysaire.....	<b>11</b>
<b>Figure 5</b>	Schéma représentant la vascularisation artérielle de l'utérus humain non gravide.....	<b>14</b>
<b>Figure 6</b>	Présence appropriée du phénotype et la fonction des cellules immunitaires maternelles.....	<b>20</b>
<b>Figure 7</b>	Localisation et organisation du complexe HLA sur le chromosome 6 ...	<b>20</b>
<b>Figure 8</b>	Différentes isoformes de HLA-G .....	<b>23</b>
<b>Figure 9</b>	Polymorphismes de la région non traduite (UTR) de HLA.....	<b>25</b>
<b>Figure 10</b>	Répartition des femmes selon la tranche d'âge.....	<b>38</b>
<b>Figure 11</b>	Classification des patients selon l'indice de masse corporelle .....	<b>39</b>
<b>Figure 12</b>	Répartition des patients selon les phénotypes des systèmes sanguins ABO et Rhésus.....	<b>40</b>
<b>Figure 13</b>	Classification des femmes selon l'origine urbaine ou rurale.....	<b>42</b>
<b>Figure 14</b>	Répartition des femmes selon le type d'infertilité .....	<b>42</b>
<b>Figure 15</b>	Répartition des femmes selon l'âge de puberté.....	<b>43</b>
<b>Figure 16</b>	Répartition des patientes selon les antécédents familiaux .....	<b>44</b>
<b>Figure 17</b>	Répartition des patientes selon la présence ou l'absence d'antécédent d'avortement.....	<b>47</b>
<b>Figure 18</b>	Profil électrophorétique des fragments amplifiés par PCR du gène <i>HLA-G</i> sur gel d'agarose a 3,5%.....	<b>48</b>
<b>Figure 19</b>	Répartition des fréquences génotypiques dans notre population .....	<b>49</b>
<b>Figure 20</b>	Répartition des fréquences alléliques dans notre population.....	<b>50</b>

## LISTE DES TABLEAUX.

<b>Tableau 1</b>	Amorces utilisées pour l'amplification du gène <i>HLA G</i> .....	35
<b>Tableau 2</b>	Les composants réactionnels de laPCR.....	35
<b>Tableau 3</b>	Tableau de contingence pour le calcul de l'odds ratio.....	37
<b>Tableau 4</b>	Classification des couples selon les régions et villes d'Algérie .....	41
<b>Tableau 5</b>	Répartition des femmes selon les antécédents chirurgicaux.....	46
<b>Tableau 6</b>	Fréquences génotypiques et alléliques dans notre population.....	48
<b>Tableau 7</b>	Résultats de l'analyse statistique du polymorphisme I/D du gène HLA G chez les patientes et témoins.....	50

# INTRODUCTION

*“Certaines rêvaient de devenir princesse, d’autres rêvaient du jour de leur mariage et toute sa vie elle s’imaginait devenir mère”*

La grossesse est une stimulation immunitaire particulière, qui se développe dans un organe très spécialisé (l’utérus), protégé par sa propre barrière (la décidue). L’incapacité des femmes à tomber enceinte après au moins 12 cycles de rapports sexuels non protégés, ou après six cycles pour les femmes de plus de 35 ans, est appelé une infertilité (Kayem et Batteux, 2008 ; Sadeghi, 2015). L’infertilité est classée en sous-catégories primaire ou secondaire. L’infertilité primaire est l’incapacité de concevoir un premier enfant, alors que l’infertilité secondaire est l’incapacité de concevoir après une naissance vivante (Gibson et Myers, 2000).

En effet, l’infertilité est due à des facteurs féminins dans 30% des cas et dans 10% des cas de cause indéterminée ou dite «idiopathique». Elle peut être expliquée par des problèmes hormonaux, immunologiques, environnementaux ou de la structure physique des organes reproducteurs (Cameron, 2006 ; Coat *et al.*, 2011).

L’infertilité idiopathique est devenue une affection répandue dans l’ensemble, touchant plus de 15% des personnes en âge de procréer dans le monde, le taux d’infertilité inexplicée parmi la population aux États-Unis est de 10-15% et entre 10-12% de la population algérienne (Asrm, 2013 ; Hamdi, 2013 ; Limiñana-Gras, 2017).

Le système immunitaire se modifie pendant la grossesse. Si l’interaction est réussie et est étroitement régulée entre le système immunitaire maternel et le tissu fœtal, la grossesse sera normale. De plus, le système immunitaire doit «s’éteindre» lors de la conception, de l’implantation et pendant un certain nombre d’étapes clés du premier trimestre, puisque tout aspect immunologique peut causer des problèmes (Hu *et al.*, 2006 ; Kayem et Batteux, 2008 ; Hechtman, 2020).

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 complexe majeur d’histocompatibilité (HLA-G) 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’*HLA-G*. Des études ont examiné le rôle du gène *HLA-G* dans l’infertilité féminine idiopathique comme les fausses couches répétitifs et l’échec de l’implantation embryonnaire au cours de la fécondation in vitro (FIV) (Fan *et al.*, 2019).

Le gène *HLA-G*, est localisé sur le chromosome 6 en p21.1-21.3, mesurant environ 43 Kb et constitué de trois parties principales : une région non codante ou région 3’UTR (*untranslated region*), une région codante constituée de 8 exons, et une région promotrice

ou 5'URR (*upstream regulatory region*), et son épissage alternatif génère sept polymorphismes: quatre membranaires (HLA-G1, -G2,-G3, -G4) et trois solubles (HLA-G5, -G6, et -G7) ; dont la distribution tissulaire est limitée au fœtus normal tandis qu'à l'âge l'adulte, le tissu présente une fonction tolérogène vis-à-vis des cellules immunitaires innées et acquises (Carosella, 2015 ; Rouas-Freiss *et al.*, 2021).

Au cours de la grossesse, l'expression de la molécule HLA-G dans le trophoblaste et plus précisément le syncytio-trophoblaste, neutralise la fonction destructrice des cellules Natural Killer (NK) (L'expression de cette molécule, dite « molécule de tolérance », constitue un mécanisme d'échappement à l'immuno-surveillance et protège les cellules fœtales de l'agression des cellules immunes maternelles). Un défaut d'expression de HLA-G conduit à une rupture de la tolérance fœto-maternelle et au rejet du fœtus (Fuzzi *et al.*, 2002). Le manque d'expression des molécules de HLA-G par une cellule trophoblastique l'expose à une attaque par les cellules NK, ce qui peut entraîner une perte de maintien de la grossesse, entraînant une perte d'embryons sous forme de fausse couche récurrente inexplicquée (Zhu *et al.*, 2010).

L'insertion ou la délétion de 14 pb dans la région 3' non traduite (3' UTR) dans l'exon 8 peut affecter la stabilité de l'ARNm avec des niveaux inférieurs ou même l'absence de HLAs-G. Cette réduction conduit à une intolérance immunologique de la mère contre l'embryon et augmente ainsi la probabilité d'échec de l'implantation d'embryons ou d'avortement (Monti *et al.*, 2019).

Dans le monde et même en Algérie, aucune étude antérieure sur la corrélation entre l'infertilité féminine idiopathique et le polymorphisme I/D du gène *HLA-G* n'a été entreprise. Par conséquent, le but de ce travail est de :

- analyser les paramètres épidémiologiques et anatomo-cliniques des femmes avec une infertilité inexplicquée ;
- étudier les facteurs de risque impliqués dans l'apparition de l'infertilité idiopathique chez les femmes algériennes;
- faire une exploration moléculaire du polymorphisme I/D du gène *HLA-G* chez les femmes avec une infertilité idiopathique ;
- prospecter d'éventuelles associations gène/pathologie et facteurs de risques/maladie.

**ETUDE  
BIBLIOGRAPHIQUES**

### I- Anatomie et physiologie

La grossesse se caractérise par d'importants ajustements physiologiques de tous les systèmes. Ces nouvelles caractéristiques ne sont pas toujours à l'avantage de la mère, elles permettent vraisemblablement l'efficacité maximale de la croissance et du métabolisme du fœtus. Le fœtus, par l'intermédiaire des hormones placentaires déversées dans la circulation maternelle, manipule les mécanismes homéostatiques de la mère. Un grand nombre de modifications apparaissent tôt au cours de la grossesse, anticipant les demandes métaboliques du fœtus (Mandelbrot et Le Gardeur, 2014).

#### 1. Fertilité naturelle de la femme

La fécondité est définie comme la capacité biologique de la reproduction, indépendamment de l'intention de grossesse ; la fertilité démontre la fécondité, mesurée par naissances vivantes ou mortinaissances parfois (Louis *et al.*, 2011).

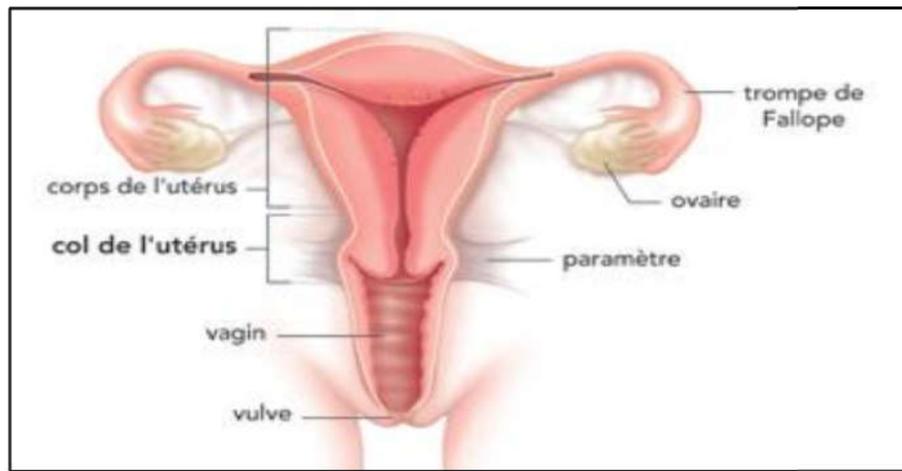
La fertilité est définie comme la capacité à « être enceinte et pouvoir avoir un enfant ». Elle est vécue comme « bonne » ou « normale » lorsque les grossesses ont été obtenues rapidement. Mais la définition de ce délai de conception rapide varie fortement entre les femmes (Dubois-Bunel, 2016).

La fertilité chez la femme dépend ainsi de plusieurs facteurs :

- un nombre suffisant de follicules ovariens contenant des ovocytes de bonne qualité.
- des sécrétions hormonales adéquates.
- des trompes perméables pour permettre la migration de l'ovocyte et des spermatozoïdes.
- ou encore la présence d'un utérus nécessaire à l'implantation (Vaiman *et al.*, 2019).

#### 1.1. Anatomie de l'appareil reproducteur de la femme

Le système reproducteur féminin est divisé en organes génitaux externes et organes génitaux internes (Figure 1).



**Figure 1:** Appareil génital féminin (INC, 2011)

Les organes génitaux externes sont communément appelés la vulve et se composent des grandes lèvres, des petites lèvres, du clitoris, du vestibule du vagin et des glandes vestibulaires. Les organes internes se composent de :

### 1.1.1 L'ovaire

Qui contient les cellules germinales, est le principal organe reproducteur de la femme. Il agit également comme un organe endocrinien, sécrétant des œstrogènes et de la progestérone en réponse à la gonadotrophine et à la paracrine (Desai *et al.*, 2017). Les ovaires sont deux organes ovales situés dans la fosse ovarienne sur la paroi latérale du pelvis, reliés à l'utérus par le ligament utéro-ovarien et à la paroi latérale pelvienne par le ligament pelvien infundibulum (Graziottin et Gambini, 2015). L'ovaire prend une forme d'amande mesurant en moyenne 3x1, 8x1,2 cm. La taille des ovaires varie avec l'âge, pendant la période d'activité génitale, les ovaires mesurent en moyenne 4 cm en taille, 6 cm<sup>2</sup> en surface et 10 cm<sup>3</sup> en volume. Après la ménopause, la disparition de stock folliculaire entraîne une atrophie progressive de l'ovaire qui mesure en règle de 1,5 à 2 cm (Bazot *et al.*, 2016).

### 1.1.2 Les trompes de Fallope (oviductes)

Mesurent environ 10 cm (4 pouces) de longueur et s'étendent latéralement de l'utérus. Les tubes se composent de deux parties, l'isthme (partie courte, étroite, à paroi épaisse plus près de l'utérus) et l'ampoule (partie plus large, plus longue du tube, plus près des ovaires) (Szmelskyj *et al.*, 2015).

### 1.1.3 L'utérus

Est un organe musculaire situé dans le bassin entre la vessie et le rectum; sa cavité communique avec le vagin inférieur et avec les trompes de Fallope avec sa partie supérieure (Graziottin et Gambini, 2015).

### 1.1.4 Le vagin

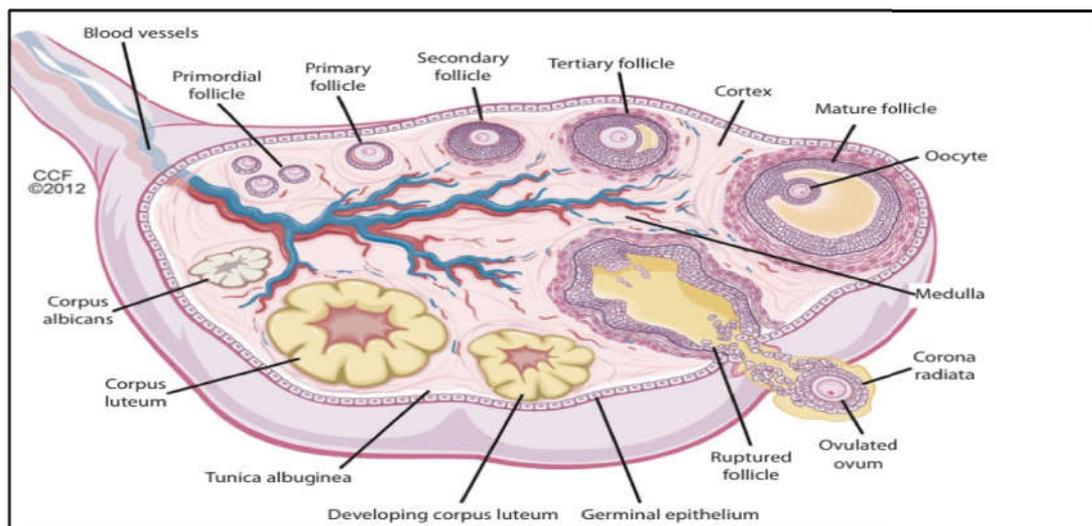
Est une structure tubulaire fibro-musculaire (de 6 à 12 cm de longueur) étendue entre la vulve et le col de l'utérus (Szmelskyj *et al.*, 2015).

## 1.2 Phases du cycle reproducteur de la femme

Le système reproducteur de la femme est le siège de changements cycliques réguliers qui du point de vue téléologique peuvent être considérés comme une préparation périodique à la fécondation et à la grossesse. Ces phénomènes constituent le cycle menstruel dont la manifestation la plus frappante est le saignement vaginal périodique qui accompagne la chute de la muqueuse utérine (menstruation) (Ganong, 2005).

Le cycle menstruel peut être défini comme une période au cours de laquelle le corps de la femme se prépare à l'éventuelle survenue d'une grossesse. La durée d'un cycle varie d'une femme à l'autre, et varie physiologiquement au cours de la vie d'une même femme. Il commence à la puberté et se termine à la ménopause par épuisement des follicules ovariens et par augmentation de résistance des follicules ovariens à l'action des gonadotrophines.

Le cycle menstruel se déroule, essentiellement, sur deux phases(Figure2).



**Figure 2:**Schéma représentant le follicule et l'ovocyte en développement dans le cortex ovarien (Desai *et al.*, 2017).

Il commence par la phase folliculaire qui a une durée variable de 11 à 17 jours en moyenne. Au terme de ce délai, l'ovulation, c'est-à-dire la libération d'un ovule fécondable par le follicule, a lieu. Le cycle se poursuit alors par la phase lutéale, qui a une durée fixe de 14 jours. L'ensemble des événements se déroulant tout au long d'un cycle est finement régulé par les sécrétions hormonales ovariennes, qui sont elles-mêmes sous le contrôle de l'hypothalamus et de l'hypophyse. La variation des taux plasmatiques de ces hormones engendrent des modifications cycliques du corps féminin, et en particulier de l'utérus (Salomé, 2013).

## 2. Fécondation

La fécondation des gamètes correspond à la fusion de deux cellules haploïdes, à savoir l'ovocyte et le spermatozoïde, aboutissant à la création d'une cellule unique, le zygote (Swierkowski-Blanchard et Wainer, 2017).

L'invasion trophoblastique de l'utérus est nécessaire pour le développement fœtal. Les trophoblastes envahissants remplissent de multiples fonctions essentielles, notamment l'ancrage du placenta à l'utérus, la régulation de la tolérance immunitaire materno-fœtale et la conversion des artérioles spirale maternelles, assurant un apport sanguin adéquat à l'espace intervilleux (Ilsley *et al.*, 2020).

## 3. Cytotrophoblaste ou futur placenta

La cellule trophoblastique est la cellule essentielle du placenta. Elle se différencie d'une part en trophoblastes villosités qui assurent les échanges fœto-maternels et les fonctions endocrines du placenta, et d'autre part en cytotrophoblastes extravilloux invasifs, indispensables à l'implantation et au remodelage des vaisseaux utérins. Le cytotrophoblaste villosités fusionne et forme le syncytiotrophoblaste. Le CTEV (cytotrophoblaste extravilloux) prolifère puis devient invasif et migre dans la décidue et le myomètre, il est appelé CTEV interstitiel. Il colonise les vaisseaux maternels (CTEV vasculaire) ou se différencie en cellules géantes plurinucléées (Tsatsaris *et al.*, 2010).

### 3.1 Evolution du placenta

La surface du placenta humain est composée de syncytiotrophoblastes multinucléaires qui se dilatent tout au long de la grossesse par fusion intercellulaire à partir d'une couche sous-jacente de cytotrophoblastes villositaires mononucléaires (Rote *et al.*, 2010).

Le développement du placenta peut être divisé en trois stades.

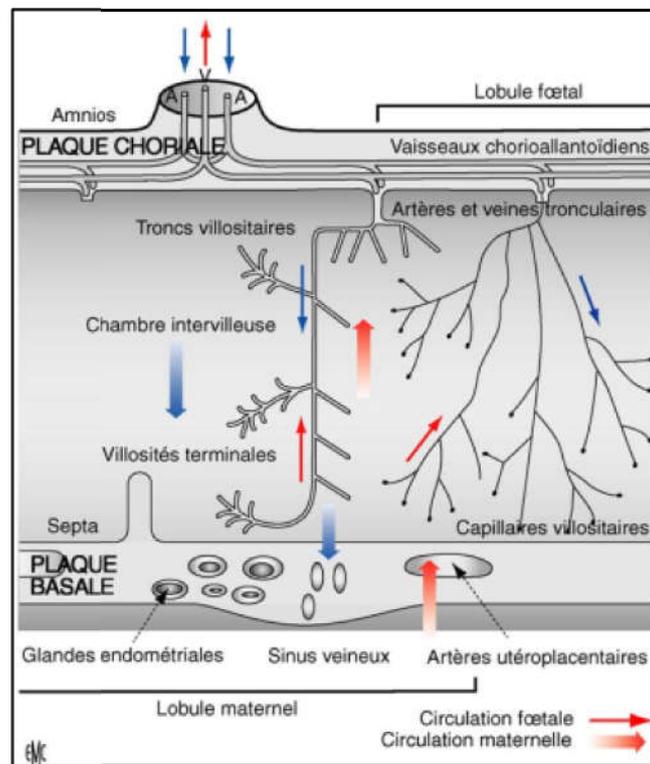
- **Stade prélacunaire** : six jours après la fécondation, le blastocyste limité par une assise cellulaire, le tropho-ectoderme, s'accroche à l'épithélium utérin. Puis, à partir du trophoectoderme se différencie une assise cellulaire interne, constituée de cytotrophoblastes. Ces cellules fusionnent pour former un vaste syncytium formant l'assise cellulaire externe appelée syncytiotrophoblaste. Ce dernier, très invasif à ce stade, pénètre l'épithélium utérin et envahit l'endomètre, grâce à son activité protéolytique; il en résulte la nidation du blastocyste au sein de la muqueuse utérine (Tsatsaris *et al.*, 2010).

- **Stade lacunaire** : Vers le 8<sup>ème</sup> jour suivant la fécondation, des vacuoles apparaissent dans cette masse syncytiale. Ces vacuoles vont progressivement former des lacunes entre les travées syncytiales. Ces lacunes forment un espace qui deviendra la chambre intervillieuse (Olivier, 2012).

- **Stade villositaire** : Au 13<sup>ème</sup> jour, les cytotrophoblastes, qui étaient encore limités à une assise interne, vont envahir les travées du syncytium formant ainsi les villosités chorales primaires. Après deux semaines, ces villosités primaires sont envahies par le mésenchyme embryonnaire et constituent les villosités secondaires. Enfin, les capillaires fœtaux apparaissent dans l'axe mésenchymateux, cette vascularisation caractérise la formation de la villosité tertiaire. En parallèle, le réseau vasculaire fœtal de l'allantoïde atteint la plaque chorale et se connecte aux vaisseaux des troncs villositaires. La villosité chorale apparaît dans sa constitution définitive vers la 3<sup>ème</sup> semaine après la fécondation. À terme, le placenta est un disque d'environ 20cm de diamètre et de 3cm d'épaisseur qui pèse approximativement 500 g. La face fœtale est appelée plaque chorale alors que la face maternelle est appelée plaque basale. Entre ces deux plaques, les villosités chorales flottent dans la chambre intervillieuse dans laquelle circule le sang maternel. L'arbre villositaire est également constitué de villosités crampons, situées à la plaque basale et ancrées dans l'endomètre (Tsatsaris *et al.*, 2010).

### 3.2 Circulation placentaire

Le placenta est formé d'une double circulation en parallèle, la circulation maternelle et la circulation fœtale entre lesquelles s'interpose le trophoblaste. La circulation maternelle comprend les artères utéro placentaires, la chambre intervillieuse puis les sinus veineux. La circulation fœtale comprend la veine ombilicale qui apporte le sang oxygéné provenant du réseau vasculaire fœtal du placenta, depuis le capillaire villositaire jusqu'aux veines trunculaires puis aux veines de la plaque choriale, au fœtus, directement dans l'oreillette droite par le canal d'Arantius et deux artères ombilicales qui apportent le sang désoxygéné du fœtus au placenta par les deux artères iliaques, puis les deux artères ombilicales, puis les artères de la plaque choriale, enfin les artères trunculaires jusqu'aux capillaires villositaires (Figure 3) (L'Herminé-Coulomb, 2005).



**Figure 3:** Représentation schématique du placenta. A : artère; V : veine (L'Herminé-Coulomb, 2005)

## II-Infertilité féminine

L'infertilité est définie comme l'incapacité de réaliser une grossesse après 12 mois d'intercours sexuels non protégés réguliers. Elle est caractérisée par la difficulté ou l'incapacité d'un couple à concevoir un enfant (Brzakowski *et al.*, 2009 ; Buckett et Sierra, 2019).

L'infertilité, la stérilité et l'infécondité sont des termes qui sont souvent utilisés de façon vague et synonyme, sans égard aux différences ou à une définition précise de chacune d'elles (Limiñana-Gras, 2017). Le terme stérilité est utilisé par certains cliniciens de façon interchangeable avec l'hypofertilité ; Elle a également été définie comme toute forme ou catégorie de fécondité réduite chez les couples qui tentent sans succès de concevoir (Yazbeck, 2016).

### 1. Epidémiologie

L'infertilité touche de 10 à 15 % des couples en âge de procréer dans le monde. Selon l'OMS, le taux d'infertilité féminine est de 30% en Afrique subsaharienne (Kouamé *et al.*, 2012 ; Le *et al.*, 2020). Dans le monde, plus de 186 millions de personnes souffrent d'infertilité, la majorité étant des résidents de pays en développement (Vander Borgh et Wyns, 2018).

Les statistiques récentes des CDC (*Centers of Disease Control and Prevention*) sur l'infertilité comprennent ce qui suit :

- pourcentage des femmes âgées de 15 à 44 ans dont la fécondité est altéré : 12,1 %.
- pourcentage des femmes mariées âgées de 15 à 44 ans qui sont infertiles : 6,7 %.
- nombre de femmes âgées de 15 à 44 ans qui ont déjà eu recours aux services d'infertilité : 7,3 millions.
- pourcentage des femmes âgées de 15 à 44 ans qui ont déjà eu recours à des services d'infertilité : 12,0 % (Hechtman, 2020).

### 2. Classification

L'infertilité est classée comme primaire, secondaire ou primo-secondaire.

- **Infertilité primaire** : lorsqu'un couple, malgré une activité sexuelle dans les limites de la norme et en absence de contraception depuis plus d'une année, n'a jamais conçu.

- **Infertilité secondaire** : lorsqu'une grossesse, voire une naissance, a déjà eu lieu, mais peine à se renouveler.
- **Infertilité primo-secondaire** : lorsqu'une grossesse a démarré mais sans naissance d'un enfant : c'est le cas des fausses couches (Hazard et Perlemuter, 2000).

L'infertilité secondaire représente 60,6% des cas et l'infertilité primaire 39,4% (Shinga, 2012 ; Belley Priso *et al.*, 2015). Néanmoins, bien que la prévalence de l'infertilité primaire soit relativement faible en raison de la maternité précoce, il existe des taux élevés de l'infertilité secondaire, en particulier en Afrique. Elle est plus fréquente dans les régions du monde où les taux d'avortement non sécuritaire et de mauvais soins de maternité sont élevés, ce qui entraîne des infections post-avortement et post-partum (Limiñana-Gras, 2017 ; Vander Borgh et Wyns, 2018).

### 3. Infertilité féminine idiopathique

L'infertilité inexplicée est définie comme l'absence de causes identifiables de l'infertilité (Buckett et Sierra, 2019). Il semble exister un consensus pour dire que l'infertilité est idiopathique si l'ovulation est normale, les trompes et la cavité utérine sont normales (Cédrin-Durnerin, 2006).

Plusieurs études montrent que la plupart des femmes ne sont pas conscientes du fait que retarder la grossesse augmente le risque d'infertilité.

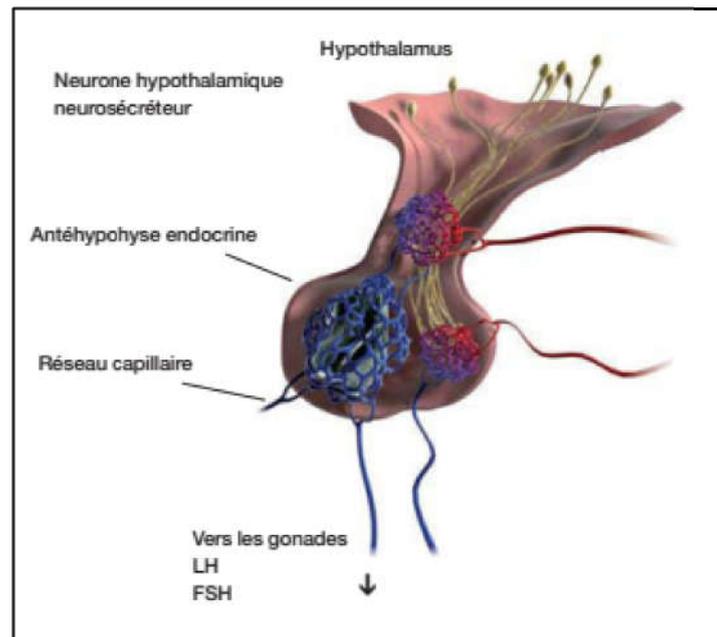
Le diagnostic de l'infertilité idiopathique est un diagnostic d'exclusion qui est retenu lorsque l'explication de l'infertilité reste inconnue. Encore faut-il les avoir cherchées et savoir jusqu'où il faut explorer (Cédrin-Durnerin, 2006). Les femmes restants dans lesquels aucune anomalie n'est constatée au cours de l'examen de fertilité sont diagnostiqués comme ayant une sous-fécondité inexplicée (Mol *et al.*, 2018).

#### 3.1. Causes possibles de l'infertilité féminine

L'infertilité ne peut pas être considérée comme un groupe homogène de problèmes de santé, mais plutôt comme une combinaison diversifiée et étendue de problèmes de santé déterminés par des facteurs multiples et différents. Donc, l'infertilité du couple est multifactorielle. L'estimation de l'infertilité montre qu'un couple sur six consulte pour un problème d'infertilité primaire ou secondaire (Yazbeck, 2016 ; Limiñana-Gras, 2017).

### 3.1.1. Dysfonctionnement hypophysaire ou folliculaire

Les hormones sexuelles sont sécrétées par les gonades, testicules et ovaires. Ce sont des hormones stéroïdes. Leur sécrétion est régulée par le complexe hypothalamo-hypophysaire (Figure 4). Une étude a révélé que 5%des femmes présentant une infertilité idiopathique présentaient une élévation des niveaux de la FSHau début de la phase folliculaire (Pillon, 2012).



**Figure4:**Complexe hypothalamo-hypophysaire (Pillon, 2012)

Le syndrome des ovaires polykystiques (SOPK), l'insuffisance ovarienne (IO) prématurée et fibrome utérin représentent les maladies de dysfonctionnement hypophysaire ou folliculaire.

- **Le syndrome des ovaires polykystiques :** il est extrêmement fréquent puisqu'il touche plus de 5% de la population féminine. Il s'agit d'une cause majeure d'anovulation.L'infertilité qui en découle est liée à l'augmentation de la fréquence et de l'amplitude des pulses de LH, conduisant à une augmentation des androgènes intra-folliculaires, une inhibition de la croissance de la granulosa (avec diminution de l'activité aromatasase), une reprise prématurée de la méiose ovocytaire et une avance de la maturation endométriale (oligospaniomenorrhœa) (Pillon, 2012 ; Merviel *et al.*, 2017).

- **L'insuffisance ovarienne prématurée :** l'IO se caractérise par une absence ou une diminution de la fonction ovarienne normale. Elle est considérée prématurée si elle

survient avant l'âge de 40 ans avec une élévation du taux de FSH > 20 mUI/L et diminution du taux d'AMH < 0,5 ng/mL (Ravel *et al.*, 2016).

- **Les fibromes utérins :** les myomes ou de léiomyomes utérins sont des tumeurs fibromes utérins aussi connus sous le nom des cellules musculaires lisses ; il s'agit des tumeurs gynécologiques bénignes les plus courantes chez les femmes en âge de procréer. Leur présence est souvent constatée dans le cadre de l'exploration qui est menée chez un couple aux prises avec l'infertilité ; par ailleurs, ces fibromes sont d'origine monoclonale. Les fibromes sous-muqueux exercent un effet négatif sur les taux d'implantation, de grossesse clinique, de grossesse en cours, de fausse couche et de naissance vivante. Il a été démontré que l'échographie constitue un moyen adéquat, rapide, sûr et rentable de déterminer la taille, le nombre et l'emplacement des fibromes (Carranza-Mamaneet *al.*, 2016).

L'hystérosalpingographie est la technique utilisée pour évaluer la perméabilité tubaire chez les femmes aux prises avec l'infertilité et pour écarter la présence d'une pathologie intra-utérine (Soares *et al.*, 2000).

L'IRM a été bien étudiée pour ce qui est de l'évaluation des utérus fibromateux, particulièrement en ce qui concerne la cartographie des fibromes et la détermination de leur pénétration sous-muqueuse (Dueholm *et al.*, 2002).

### 3.1.2. Dysfonctionnement des gamètes

Chaque gamète mature est le produit fini et unique du processus méiotique, et leur étude n'est pas influencée par les paramètres de viabilité ou de perte embryonnaire précoce, associés à l'examen des produits d'avortement ou des nouveaux-nés (Vialard et Pellestor, 2008).

Le blocage de la méiose ovocytaire affectant la transition entre la métaphase I et la métaphase II. Ce phénomène est lié à l'infertilité primaire idiopathique. Une autre théorie suggère qu'un défaut de la trompe de Fallope lors de la capture naturelle des ovules pourrait s'observer chez ces femmes, bien que cela soit difficile à vérifier (Bergère *et al.*, 2001).

### 3.1.3. Altération de la fonction de l'endomètre

L'endomètre présente toutes les propriétés requises pour l'implantation embryonnaire au moment de la « fenêtre d'implantation » située entre le 5<sup>ème</sup> et le 7<sup>ème</sup> jour après

l'ovulation. Cette période est marquée par des événements morphologiques et biochimiques bien coordonnés (Porcu *et al.*, 2004).

### - **L'endométriose**

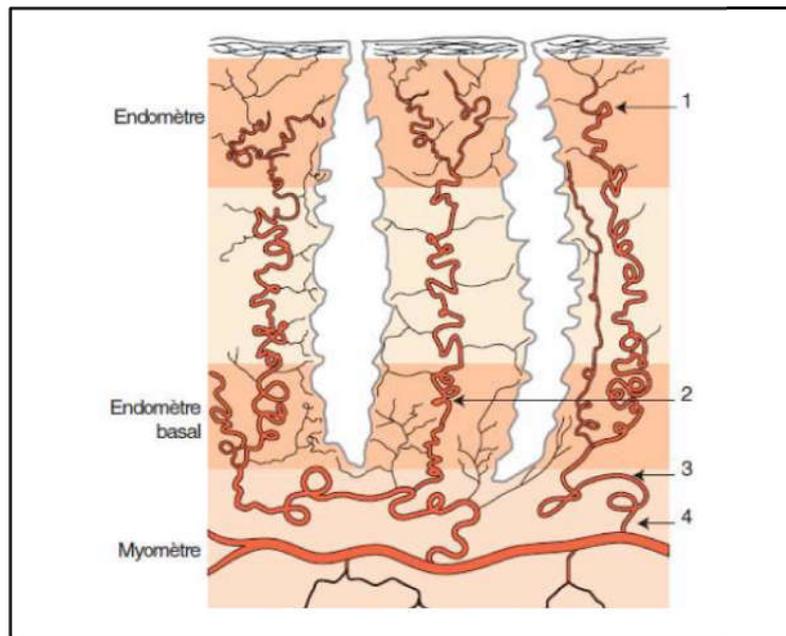
L'endométriose est définie par la présence d'un tissu endométrial comportant à la fois des glandes et du stroma en dehors de la cavité utérine. L'endométriose minimale ou légère est parfois responsable d'hypofertilité. Cette relation semble plus nette dans les stades évolués. Une faible expression des récepteurs de la progestérone au niveau de l'endomètre et une induction œstrogénique inadéquate des récepteurs de la progestérone ont été rapportés chez les femmes avec infertilité non expliquée (Pillon, 2012). Trois types sont individualisés: endométriose péritonéale superficielle, kystes endométriosiques et endométriose sous-péritonéale profonde (Kehila *et al.*, 2014).

### - **Les polypes endométriaux**

L'hystérographie permet le diagnostic de polype utérin lors de la mise en évidence d'une image non opacifiée avec parfois identification du pédicule (Dechanet *et al.*, 2009). Leur diagnostic est suspecté par échographie et HSG (Hystéro Salpingo Graphie) mais l'examen de référence est l'HSG (Lepage *et al.*, 2018)

### **3.1.4. Débit sanguin altéré de l'artère utérine ou spirale**

Les artères utérines se divisent pour donner des artères arquées, qui vont secondairement donner les artères radiaires qui traversent le myomètre avant de se transformer en artères spiralées au niveau de l'endomètre. Des artères radiaires naissent également des artères basales qui vascularisent l'endomètre profond (Figure 5).



**Figure 5:** Schéma montrant la vascularisation artérielle de l'utérus humain non gravide  
1: Artère spiralee, 2: artère basale, 3: artère radiée, 4: artère arquée (Morel, 2012)

Un flux sanguin artériel utérin anormal pourrait être associé à une infertilité idiopathique. Ainsi, une impédance augmentée de l'artère utérine dans la phase mi-lutéale ou un flux anormal dans les artères spirales pourrait altérer le processus d'implantation (Morel, 2012).

### 3.1.5. Facteurs environnementaux

Les facteurs environnementaux contribuent grandement à l'infertilité. Dans le contexte des facteurs environnementaux, le rôle de la pollution atmosphérique, des métaux lourds, des hydrocarbures pétroliers et de la chaleur excessive sera discuté (Zauner et Girardi, 2020).

Chez la femme, le tabagisme actif ou passif diminue la fertilité de 10% à 20% en augmentant le délai de conception, avec une relation dose-effet et le risque de grossesse extra-utérine.

La consommation d'alcool à risque est plus difficile à établir. Les effets de l'alcoolisme sur la fertilité féminine est plurielle avec des risques de dysfonctions gonadiques centrales ou périphériques se traduisant par des troubles du cycle menstruel.

Les régimes hypocaloriques chez les femmes sportives ou dans le domaine de l'esthétique entraînent des troubles ovulatoires (Brzakowski *et al.*, 2009).

### 3.1.6. Facteurs immunologiques

De nombreux types d'anticorps ont été suggérés comme causes possibles de l'infertilité idiopathique. Ainsi, les anticorps ovariens sont fréquents chez les femmes présentant ce type d'infertilité. L'auto-immunité anti-ovarienne intervient très vraisemblablement comme un mécanisme étiopathogène parmi d'autres dans une situation pathologique, comme l'infertilité dite inexplicée (Forges *et al.*, 2003).

Parmi les causes immunologiques, le SAPL (syndrome des anticorps anti-phospholipides) et le LES (le lupus érythémateux systémique) peuvent être des causes d'infertilité féminine (Cheloufi *et al.*, 2018).

#### - **syndrome des anticorps anti-phospholipides**

Le SAPL associe des manifestations thrombotiques artérielles et/ou certaines complications obstétricales à la présence durable d'anticorps dits « anti-phospholipides » (aPL). Ces marqueurs biologiques constituent une famille très hétérogène d'auto-anticorps subdivisés en deux groupes : des anticorps mis en évidence par des techniques de coagulation, les anticoagulants circulants de type lupique ou lupus anticoagulant (LA) et des anticorps détectés par des méthodes immunologiques de type ELISA : anti-cardiolipines (aCL) et anti-bêta-2-glycoprotéine 1 (anti- $\beta$ 2GP1) principalement. D'autres spécificités sont rapportées en particulier anti phosphatidyléthanolamine (aPE), anti-prothrombine (aPT), anti-annexine (Ellouze et Guermazi, 2011).

#### - **Lupus érythémateux systémique**

Le LES, ou lupus érythémateux disséminé, est une maladie rare, chronique et particulièrement invalidante. Le lupus se caractérise par une perte de tolérance vis-à-vis d'antigènes du soi, avec la production d'auto-anticorps (antinucléaires et anti-acide désoxyribonucléique [ADN]) à l'origine des lésions tissulaires inflammatoires. Cette réaction auto-immune est entretenue par différentes boucles d'amplification dont les mécanismes mettent en jeu à la fois des cibles cellulaires (lymphocytes B, lymphocytes T folliculaires *helper*, cellules dendritiques) et des cibles moléculaires (des cytokines telles que les interférons  $\alpha$  et  $\beta$ , la protéine BAFF/BlyS, les protéines impliquées dans la signalisation cellulaire, les protéines d'adhésion cellulaire, les molécules de co-stimulation...) (Buxeraud, 2016).

### 3.1.7. Facteurs génétiques

Les mariages consanguins augmentent considérablement l'incidence des troubles récessifs héréditaires et affectent certains paramètres de la santé reproductive et développementale comme les taux d'infertilité et les fausses couches récurrentes (Vander Borgh et Wyns, 2018).

Les variantes génétiques pathologiques dérèglent les processus méiotiques qui se produisent pendant la prophase I, la reprise méiotique, la ségrégation chromosomique et la régulation du cycle cellulaire. Ce dérèglement peut entraîner des ovules anormaux (aneuploïdes) sur le plan chromosomique. À son tour, l'aneuploïdie de l'ovule entraîne un large éventail de phénotypes cliniques d'infertilité, notamment une insuffisance ovarienne primaire et une ménopause précoce, un échec de la fécondation des ovules et un arrêt du développement embryonnaire, ou des fausses couches à répétition. Par conséquent, des variantes génétiques maternelles émergent en tant que bio marqueurs d'infertilité, ce qui pourrait permettre une prise de décision éclairée en matière de reproduction (Biswas *et al.*, 2021).

Les approches génomiques, y compris le séquençage de nouvelle génération et les puces cytogénétiques, ont commencé à identifier les relations entre les phénotypes cliniques d'infertilité et les variantes génétiques maternelles. La maladie de l'infertilité comprend un éventail de niveaux de fécondité des patients, y compris l'hypofertilité (ACOG, 2019).

## II- Immunologie de la grossesse

La grossesse est un paradoxe immunitaire dans lequel le fœtus immunologiquement étranger doit prospérer tout en étant en contact direct avec le système immunitaire maternel tout en maintenant une défense immunitaire contre les agents pathogènes (Tong et Abrahams, 2019).

La grossesse est une semi-allogreffe temporaire qui survit pendant neuf mois. Elle se développe dans un organe très spécialisé (l'utérus), protégé par sa propre barrière (la décidue). Le fœtus, immunologiquement étranger à l'organisme maternel, impose des adaptations physiologiques pour empêcher le processus de rejet. Les régions propices aux interactions immunologiques fœto-maternelles sont le placenta, la décidue utérine et le compartiment sanguin maternel. Cependant, l'immunologie de la grossesse humaine normale reste énigmatique (Keyem, 2008).

### 1. Placenta et grossesse

Le placenta est la seule greffe de tissus allo génique de la nature. Le placenta humain est un organe fœtal qui est en contact intime et prolongé avec les systèmes immunitaire et cardiovasculaire maternels. Il résiste à la lyse par les anticorps cytotoxiques maternels anti paternels, en inhibant l'activation du complément par des molécules régulatrices (Le-Bouteiller et Tabiasco, 2006).

Au moment de l'implantation au tout début de la grossesse, les cellules trophoblastiques placentaires interagissent directement avec les cellules du système immunitaire maternel qui sont soit en circulation, résident dans l'endomètre de la grossesse, la caduque, ou recrutés à l'interface materno-fœtale.

Malgré d'importants progrès de la recherche, il reste à comprendre le phénomène d'expression d'antigènes paternels par les cellules placentaires (non soi) afin d'échapper à l'attaque immunitaire de la mère et comment ils transforment l'utérus en système immunisant, mais propre, dans lequel le placenta et le fœtus sont capables de se développer pendant la durée de la grossesse (Tong et Abrahams, 2020).

#### 1.1. Rôles du placenta

Le placenta humain est l'organe temporaire extra-embryonnaire qui n'est présent que pendant la grossesse ; longtemps considéré comme une barrière protégeant le fœtus renforcée par la présence d'acide sialique, les mucopolysaccharides et les effets des hormones hCG (*human Chorionic Gonadotropin*) et HPL (*Human Placenta lactogen*). Il assure plusieurs fonctions, y compris le transport de nutriments et du gaz (Hanssens *et al.*, 2012).

De plus, il préserve le fœtus des lymphocytes T maternels par plusieurs mécanismes complémentaires: l'absence d'expression du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH), l'expression de l'HLA-G et un mécanisme d'épuisement actif du tryptophane par le biais d'une enzyme : Indoleamine 2,3-dioxygénase (IDO), qui est fortement exprimée par le trophoblaste, et en particulier le trophoblaste extravilleux (EVT). L'IDO catabolise le tryptophane dont les cellules T ont besoin pour leur activité (Kayem et Batteux, 2008).

Le trophoblaste est le chef d'orchestre de l'installation de la tolérance au cours de la grossesse vu qu'il interfère avec le fonctionnement de la plupart des effecteurs de l'immunité : les cellules NK, les macrophages et les cellules dendritiques ainsi que les

cellules T. En intervenant sur ces effecteurs, il intervient au cours de la plupart des mécanismes de tolérance rencontrés pendant la grossesse :

- par son antigénicité particulière,
- par son intervention sur l'activation des cellules T,
- par l'induction de cellules régulatrices et suppressives,
- par l'induction de l'apoptose des cellules immunitaires,
- par la libération de corps apoptotiques et d'exosomes,
- par altération du métabolisme du tryptophane (Mesdag *et al.*, 2014).

### 1.2. Immunologie du placenta

L'embryon présente à la surface de ses cellules des protéines HLA différentes de celles de sa mère, puisque la moitié de ses gènes lui sont apportés par le pronucléus paternel. Pour le système immunitaire de la mère, il constitue donc le «non soi» et devrait être éliminé s'il n'existait pas des mécanismes de protection. Après l'implantation, le CTEV présente des antigènes d'histocompatibilité monomorphes de type HLA-G (invariables entre individus de la même espèce). Cette molécule joue un rôle essentiel dans la tolérance fœto-maternelle. Sa présence à la surface de ces cellules inhibe l'activité cytotoxique des lymphocytes NK infiltrant le tissu maternel. Ceci est dû à l'interaction entre les récepteurs inhibiteurs de la lyse NK et HLA-G. La molécule HLA-G a également la capacité de contrer l'action des cellules T cytotoxiques en inhibant leur capacité lytique antigène-spécifique. Son interaction avec trois récepteurs spécifiques exprimés sur les cellules T, B, NK et les cellules présentatrices d'antigènes (APCs) lui permet d'interagir à tous les niveaux de la réponse immunitaire (Carosella, 2014). L'expression de la molécule HLA-G permet d'empêcher l'attaque des cellules NK en se liant aux killer inhibitory receptor (KIR) 1 et 2 (Dorling *et al.*, 2000).

### 2. Tolérance à l'interface fœto-maternelle

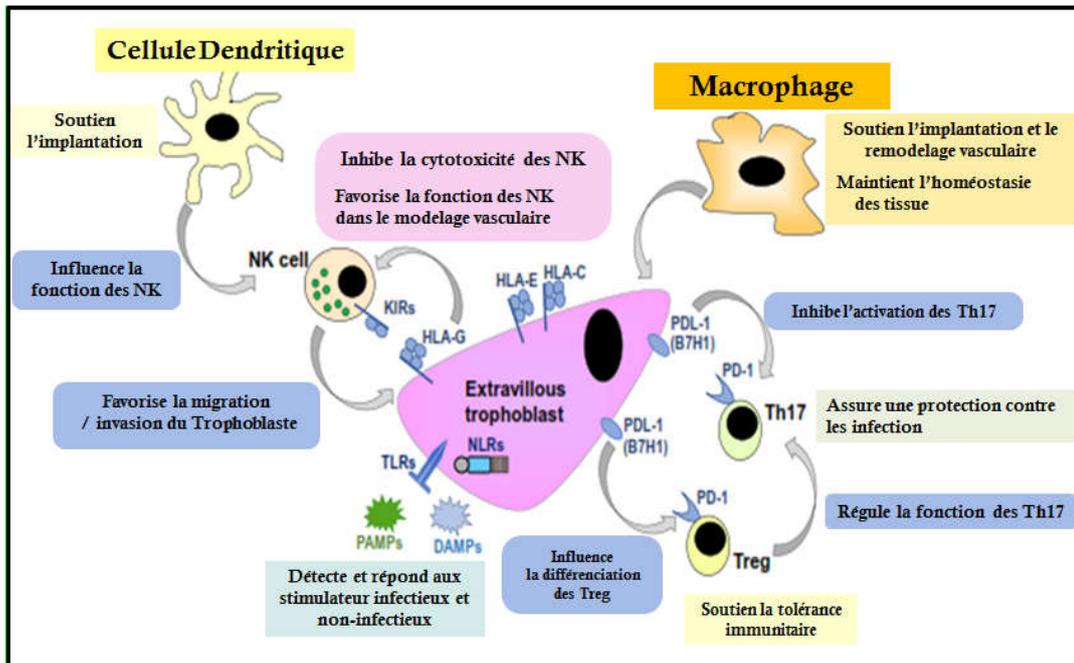
La tolérance fœto-maternelle représente le seul exemple non pathologique de tolérance naturelle induite par une greffe semi-allogénique. Le placenta utilise plusieurs mécanismes pour réguler et adapter la tolérance immunitaire maternelle. Il a la capacité de détecter les déclencheurs infectieux et non infectieux et de générer les réponses innées de type immunitaire (Robertson, 2015).

Durant la grossesse, le fœtus semi-allogénique est accepté par le système immunitaire maternel. C'est le résultat de l'installation d'une tolérance active dirigée par le trophoblaste. Dès le début de la grossesse, le trophoblaste sécrète de l'hCG, hormone aux vertus de tolérance, il se protège contre les effecteurs de l'immunité en n'exprimant pas les antigènes HLA I et II classiques, mais une molécule HLA I non classique, HLA-G, intervenant dans plusieurs mécanismes de tolérance. Le trophoblaste attire les cellules immunitaires dans la décidua où il maintient un environnement éduquant les cellules immunitaires vers la tolérance (Chaouat *et al.*, 2010).

### 2.1. Cellule immunitaire à l'interface materno-fœtale

L'interface fœtale-maternelle se compose principalement de stroma maternel décidual, envahissant le trophoblaste placentaire et les cellules immunitaires maternelles. Leur présence est appropriée selon le phénotype/fonction de ces cellules immunitaires maternelles est absolument nécessaire pour un succès d'une grossesse. Au cours du premier trimestre de la grossesse, la plupart des leucocytes maternels présents dans la caduque sont les NK, avec les autres étant des macrophages, des cellules T et des cellules dendritiques (Mor et Abrahams, 2017).

D'autres cellules immunitaires tels que les mastocytes, les cellules B et les cellules lymphoïdes innées sont également présents à faible nombre. Bien que le nombre de cellules NK reste relativement stable tout au long de la gestation, il y a une expansion des cellules T régulatrices (Tregs) avec la gestation qui s'accumulent autour des trophoblastes envahissants. Les rôles potentiels du système immunitaire dominant les cellules à l'interface materno-fœtale sont brièvement décrites dans la figure 6 (Tong et Abrahams, 2020).

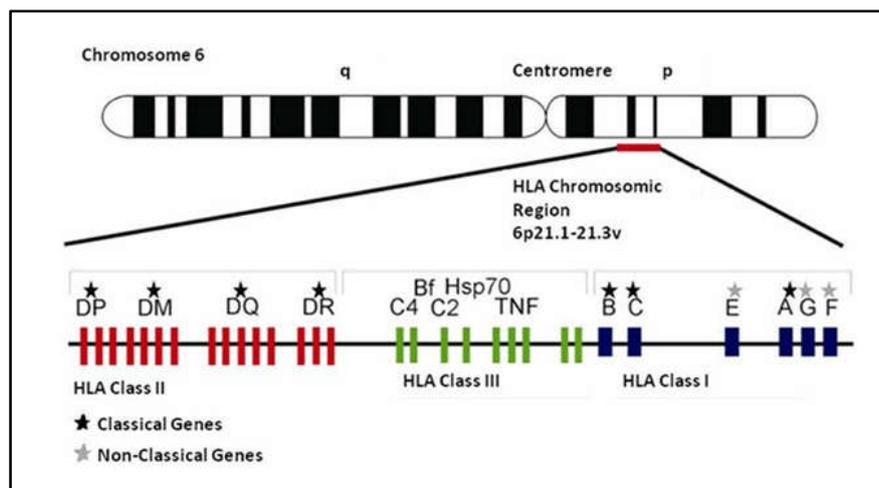


**Figure 6:** Présence appropriée du phénotype et la fonction des cellules immunitaires maternelles (Tong et Abrahams, 2020).

### 3. Généralités sur l'HLA-G

#### 3.1. Présentation du système HLA

La famille des gènes HLA est située sur le bras court du chromosome 6 et s'étend sur plus de 3,7 millions de paires de bases (Figure 7) (Shiina *et al.*, 2017).



**Figure 7 :** Localisation et organisation du complexe HLA sur le chromosome 6 (Arnaiz-Villena *et al.*, 2020).

La région HLA contient plus de 200 gènes dont une majorité n'est pas apparentée au système immunitaire mais certains peuvent avoir un rôle indirectement fonctionnel. Ces différents gènes sont subdivisés en 3 groupes distincts : les gènes HLA de classe I, classe II et classe III. Les gènes HLA impliqués dans la réponse immunitaire font partie des classes I et II, codant pour des protéines structurellement et fonctionnellement différentes. La région HLA de classe III code pour des composantes importantes dans les inflammations, comme les molécules du complément ou des facteurs comme le facteur B ou le facteur de nécrose tumorale (TNF) (Williams, 2001).

Les gènes codant pour les antigènes HLA I sont regroupés à l'extrémité télomérique de la région HLA sur le chromosome 6p21. Relativement peu de gènes HLA I sont transcrits ou traduits, les gènes de classe I exprimés sont subdivisés en classe Ia, qui comprend HLA-A, -B et -C, et en classe Ib, qui comprend HLA-E, -F et -G situés dans la même région que les gènes HLA classiques de classe Ia (Arjmand et Samadi, 2016 ; Gallegos *et al.*, 2016 ; Arnaiz-Villena *et al.*, 2020).

Les gènes de HLA I sont organisés en huit exons codants respectivement pour une séquence signal (exon 1), trois domaines externes (exons 2, 3, 4), un domaine transmembranaire (exon 5), un domaine cytoplasmique (exons 6 et 7) et une région 3' non traduite (exon 8). Les exons sont séparés par 7 introns non codants à l'exception des cellules sexuelles mâles (spermatozoïdes), les cellules nerveuses et les cellules fœtales (Gallegos *et al.*, 2016).

Toutefois, la région HLA II abrite trois principaux gènes HLA-DR, HLA-DQ, HLA-DP ainsi que d'autres gènes (DO, DM). Les molécules de classe II ont une distribution plus limitée que celles de la classe I. Elles sont retrouvées au niveau de certains types cellulaires tels que les lymphocytes B, les lymphocytes T activés, les macrophages et les cellules dendritiques (Chinen et Buckley, 2010).

Plus de 15 000 allèles HLA I et 5000 HLA II ont été identifiés chez l'homme (Robinson *et al.*, 2015), et ce polymorphisme étendu constitue un grand pool de molécules capables de se lier et de présenter des peptides dérivés de cellules infectieuses ou tumorales (Bai *et al.*, 2020).

### 3.2. HLA G : Molécule du CMH

Le gène HLA-G a été identifié en 1987 (Geraghty *et al.*, 1987) et l'expression de la protéine HLA-G a été observée pour la première fois dans des CTEV en 1990 (Kovats *et al.*, 1990). Les caractéristiques génétiques et moléculaires et les fonctions biologiques du HLA-G ont été étudiées en profondeur.

Les antigènes HLA I classiques, HLA-A,B et C, comme les antigènes de classe II, jouent un rôle important dans l'induction d'une réponse immunitaire spécifique via la présentation antigénique aux cellules T. Ces molécules très polymorphes constituent des antigènes de transplantation qui peuvent être reconnus par les lymphocytes T alloréactifs (Carosella, 2014).

Contrairement aux CMH classiques, HLA-G, cette molécule HLA non classique de classe I, a été décrite pour la première fois comme jouant un rôle essentiel dans le maintien de la tolérance fœto-maternelle (Kovats *et al.*, 1990). Plus tard, il a été démontré que HLA-G module les réponses immunitaires innées et adaptatives et favorise la tolérance dans différents contextes cliniques. La fonction de HLA-G est favorable pendant la grossesse ou après la transplantation car elle protège du rejet et dans les maladies auto-immunes puisque il empêche les réponses auto réactives, ou il est préjudiciable lorsqu'elle est exprimée par les tumeurs ou lors d'infections chroniques, induisant des mécanismes d'échappement immunitaire (Carosella *et al.*, 2015).

Le locus HLA-G présente un schéma d'expression tissulaire restreint, étant exprimé dans des conditions physiologiques uniquement dans certains tissus tels que le trophoblaste à l'interface mère-fœtus, le thymus, la cornée, le pancréas, la matrice proximale de l'ongle, l'érythroblaste et les cellules souches mésenchymateuses (Donadi *et al.*, 2011).

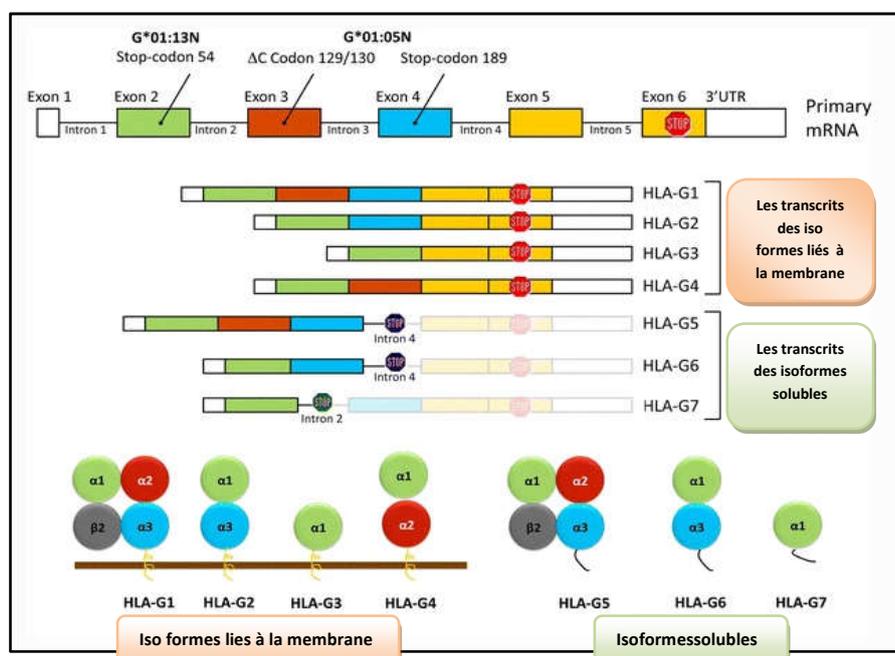
L'HLA-G est clairement identifiée comme une molécule inhibant directement la fonction des effecteurs allogéniques, *via* l'interaction avec 3 récepteurs inhibiteurs, ILT2, ILT4 et KIR2DL4 présents sur les cellules T, B, NK et les cellules présentatrices d'antigènes (APCs) (Carosella, 2014 ; Friedrich *et al.*, 2019).

HLA-G protège les tissus fœtaux à partir de cellules immunitaires maternelles (Moffett et Colucci, 2015), ce qui est corrélé positivement avec des grossesses saines (Sciezynska *et al.*, 2019), comme il est également identifié sur les cellules tumorales et certaines autres cellules subissant un stress et des dommages (Maeda *et al.*, 2012).

### 3.3. Polymorphisme de HLA-G

Le gène *HLA-G* est constitué de trois parties principales : une région non codante ou région 3'UTR, une région codante constituée de 8 exons et sept introns, mais il présente un codon stop dans l'exon 6, résultant en une courte queue cytoplasmique; comme les gènes HLA I classiques, et une région promotrice ou la région régulatrice en amont 5'URR (Carosella, 2014 ; Rouas-Freisset *et al.*, 2021).

Néanmoins ce gène non classique est caractérisé par son faible polymorphisme en comparaison aux gènes de classe I, il présente une certaine variabilité qui peut concerner les différentes régions et il peut s'agir de la variation d'un ou de plusieurs allèles. Vu que le gène HLA-G a un nombre limité de polymorphismes dans la région codante, relativement peu de molécules distinctes sont codées. Néanmoins, l'épissage alternatif d'un seul transcrite primaire d'ARN est responsable de la production de sept isoformes différentes de HLA-G : quatre isoformes membranaires (HLA-G1, HLA-G2, HLA-G3 et HLA-G4) et trois isoformes solubles (HLA-G5, HLA-G6 et HLA-G7) dont la distribution tissulaire est limitée au fœtus normal tandis qu'à l'âge l'adulte le tissu présente une fonction tolérogène vis-à-vis des cellules immunitaires innées et acquises(Figure 8) (Donadi *et al.*, 2011 ; Lynge *et al.*, 2014 ; Carosella *et al.*, 2015).



**Figure 8** : Différentes isoformes de HLA-G (Donadi *et al.*, 2011)

### 3.3.1. Haplotypes de *HLA-G*

Le gène *HLA-G* possède 74 allèles codant pour 24 protéines de longueur différentes et quatre allèles codant pour des protéines tronquées. Jusqu'à présent, au moins 32 polymorphismes dans la région 5' non codante (5'UTR), 75 dans la région codante et 16 en 3'UTR ont été décrits dont seulement neuf ont été reconnus comme de véritables polymorphismes : Polymorphisme I/D de 14 pb , +3003 C/G, +3010 G/C , +3027 C/A, +3035 C/T, +3142 C/G, +3187 A/G, +3196 C/G et +3227 G/A (Annexe I) (Castelli, 2014). Un degré de variation relativement supérieur est observé dans le 5'URR et dans le 3'UTR, et les polymorphismes survenant dans ces régions sont impliqués dans la régulation transcriptionnelle et post-transcriptionnelle de *HLA-G* (Amodio *et al.*, 2016 ).

Le locus *HLA-G*, contrairement au gène *HLA I* classique, est hautement polymorphe dans la région non traduite 3' (UTR) et dans la région régulatrice en amont 5' (5' URR). La variabilité de ces régions influence l'expression de *HLA-G* en modifiant la stabilité de l'ARNm ou en permettant une régulation post-transcriptionnelle dans le cas de 3'UTR ou en détectant le microenvironnement et en répondant à des stimuli spécifiques dans le cas des régions promotrices *HLA-G* (5'URR) (Amodio *et al.*, 2016 ; Amodio et Gregori, 2020).

### 3.3.2. Polymorphisme insertion/délétion de 14 paires de bases

Le premier polymorphisme identifié et le plus étudié des locus *HLA-G* dans les troubles de la reproduction était une insertion/délétion de 14 paires de bases (14 pb I/D) survenant dans la 3' UTR. L'I/D de 14 pb a été associée à une diminution ou à une augmentation de la production et de la stabilité de l'ARNm de *HLA-G* (Hviid *et al.*, 2003 ; Rousseau *et al.*, 2003). Par conséquent, la présence de l'allèle I de 14 pb déstabilise le transcrite de l'ARNm, entraînant une diminution d'expression de *HLA-G*, tandis que la présence de l'allèle D agit en sens inverse (Rizzo *et al.*, 2012 ). Donc, l'allèle I code pour un transcrite avec une délétion de 92 pb conduisant à un fragment d'ARNm plus stable que celui généré par le D de 14 pb, suggérant que l'allèle I de 14 pb pourrait également être associé à un fort niveau d'expression de *HLA-G* (Figure 9)(Rousseau *et al.*, 2003 ; Ferreira, 2017).

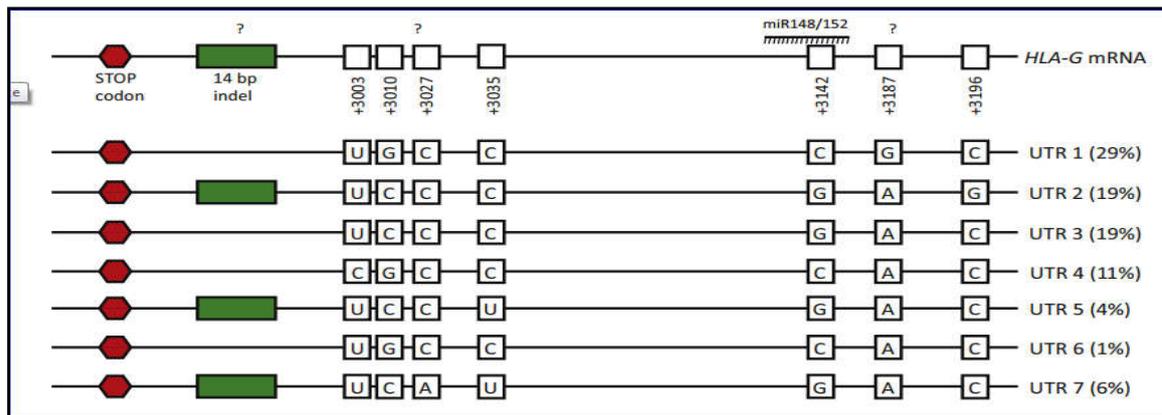


Figure 9 : Polymorphismes de la région non traduite (UTR) de HLA-G (Ferreira, 2017).

### 3.4. Association du polymorphisme génétique *HLA-G* avec la fécondation in vitro

Malgré les progrès des techniques de reproduction artificielle (TAR), l'échec d'implantation récurrent (RIF) se produit toujours et affecte environ 10% des femmes qui ont subi plusieurs transferts d'embryons par la FIV-ET (Fécondation in vitro et transfert d'embryon), par conséquent, un bio marqueur non invasif est nécessaire pour indiquer dès que possible si le transfert d'embryon est réussi ou non, ou s'il existe des complications entraînant une fausse couche.

Certains auteurs ont suggéré que l'expression de l'antigène leucocytaire humain (HLA)-G était similaire à celle d'une molécule immunomodulatrice qui influence l'issue de la grossesse. Le gène HLA-G code pour des protéines liées à la membrane et/ou solubles. Des polymorphismes de HLA-G ont été testés dans la région non traduite de l'exon 8. Nonobstant, d'autres facteurs que HLA-Gs puissent également contribuer aux complications de la grossesse ne sont pas exclus (Nowak *et al.*, 2020).

Le HLA-G a été détecté dans le plasma ou le sérum non seulement de femmes enceintes mais également non enceintes; néanmoins, la concentration de HLA-Gs était plus élevée dans le sang des femmes enceintes que dans celui des femmes non enceintes. De plus, les taux de HLA-Gs étaient plus élevés au cours du premier trimestre de la grossesse par rapport aux deuxième et troisième trimestres (Rizzo *et al.*, 2009). Tandis que, de faibles taux de HLA-Gs ont été détectés dans les fausses couches à répétition (Zidi *et al.*, 2015), les fausses couches dans les grossesses par FIV (Pfeiffer *et al.*, 2000).

Les faibles niveaux de HLA-Gs mesurés chez les femmes pré ovulatoires semblent être à un risque d'avortement précoce après une FIV. Par conséquent, la détermination génétique

des haplotypes/diplotypes pourrait être utile pour prédire le risque d'infertilité avant la FIV-ET (Pfeiffer *et al.*, 2000 ;Nowak *et al.*,2020).

Ainsi, en étudiant l'impact des haplotypes HLA-G sur le taux plasmatique de HLA-G soluble et l'issue de la grossesse chez les patientes subissant une FIV-ET, il a été conclu que les polymorphismes dans la région du promoteur de HLA-G et 3'UTR influencent l'expression et la sécrétion de sa protéine soluble. Toutefois des haplotypes et diplotypes HLA-G particuliers sont associés à la grossesse. Les femmes positives pour l'haplotype GC-INS et le diplotype GC-INS/GC-INS ont le pire pronostic de grossesse (Nowak *et al.*, 2020).

La mesure de HLAs-G ne doit pas être corrélée à un seul polymorphisme, par exemple, 14 bp I/D, car le niveau de protéine HLA-G sécrétée dans le plasma dépend d'une combinaison génétique de nombreux SNP (Single Nucleotid Polymorphism), en particulier dans la région du promoteur, qui sont proches des éléments régulateurs et des sites CpG, et pourraient altérer la liaison des facteurs de transcription ou la méthylation du promoteur et donc avoir un impact sur le taux de transcription (Lynge *et al.*, 2014).

### 3.5. Association génotype/expression/maladie HLA-G

La détection des niveaux de protéine HLA-G, à la fois sous forme soluble (HLA-G5 et -HLA-G1) et sous forme liée à la membrane (HLA-G1) ainsi que leur haplotypes peuvent être associés à des génotypes spécifiques ; ainsi, certaines études ont été réalisées pour tenter de corrélérer l'empreinte génétique de HLA-G avec la susceptibilité et l'évolution de la maladie ou pour les utiliser comme facteur prédictif de la réponse au traitement ou du résultat de la transplantation (De Almeida *et al.*, 2018) .

La première preuve que le génotype HLA-G influence la quantité de HLAs-G en circulation était rapporté par Rebmann et al, en 2001.En effet, l'identification des sites polymorphes HLA-G 3'UTR a incité les chercheurs à corrélérer la variation génétique *HLA-G* à 3'UTR et l'expression de la protéine. La présence de l'allèle I de 14 pb a été associée à une production plus faible de HLA-G pour la plupart des HLA-G5 et HLA-G1 libérés dans le plasma ou le sérum, et HLA-G1 dans les échantillons de trophoblastes (Carosella *et al.*,2015).D'autre part ,la découverte d'haplotypes et de génotypes 3' UTR a incité les chercheurs à concilier l'hétérogénéité des résultats obtenus dans leurs études sur l'association entre l'I/D 14 pb et les maladies (Amodio *et al.*,2016 ; Meuleman *et al.*, 2018).

Plusieurs chercheurs ont rapporté le rôle protecteur des UTR spécifiques dans la prévention de fausses couches récurrentes, avec UTR-1, 3-UTR, et UTR-4 présents à une fréquence basse chez ces femmes (Amodio *et al.*, 2016 ; Meuleman *et al.*, 2018). Ces études indiquent que l'analyse de 3 UTR a fourni une amélioration au-delà de l'utilisation de génotypes I/D de 14 pb dans l'association avec la grossesse. UTR-1, UTR-3 et UTR-4 contiennent en effet une délétion de 14 pb, mais ils diffèrent des autres UTR pour des SNP spécifiques supplémentaires (Larsen *et al.*, 2010 ; Castelli *et al.*, 2014 ).

Ces résultats indiquent une corrélation entre les génotypes *HLA-G*, et en particulier ceux contenant l'allèle I de 14pb, et la perte de grossesse ou la sensibilité à des types spécifiques de cancer. Jusqu'à ce jour aucune association génotype/expression/maladie *HLA-G* claire et univoque n'a pu être identifiée, à l'exception de l'allèle I/D de 14pb.

En effet, l'influence des variations génétiques sur l'expression de *HLA-G* en fait un biomarqueur de la prédisposition et de la progression de la maladie, ou de la réponse au traitement (Amondio et Gregori, 2020).

### 3.6. Expression et régulation de HLA-G

La variabilité de la région du promoteur *HLA-G* influence l'expression de *HLA-G* en détectant et en répondant aux signaux extracellulaires. Les variations génétiques de la 3' UTR, qui contiennent plusieurs sites cibles pour les microARN (miARN), régulent l'expression au niveau post-transcriptionnel de *HLA-G*, dont six qui ont été rapportés (miR-148a, miR-148b, miR-152, miR-133a, miR-628-5p et miR-548q). L'expression des miARN peut varier entre différentes conditions pathologiques et dans différentes cellules, affectant ainsi l'expression de *HLA-G* s'il est présent (Poras, 2017).

Les variations dans la région 3'UTR peuvent modifier la stabilité de l'ARNm ou permettre une régulation post-transcriptionnelle, dans le cas de 3' UTR ou bien par détection du microenvironnement et répondre à des stimuli spécifiques dans le cas des régions promotrices (5' URR)-*HLA-G* (Dias *et al.*, 2018).

*HLA-G* ne répond pas aux signaux pro-inflammatoires agissant sur la voie NF- $\kappa$ B (facteur nucléaire-amplificateur de chaîne légère de cellules B) activées et à la stimulation médiée par, interférons l'IFN. La région du promoteur de *HLA-G* est unique parmi les gènes HLA I car elle interagit avec des facteurs de transcription spécifiques activés par des stimuli extracellulaires induits par l'hypoxie (Nagamatsu *et al.*, 2004) et le choc thermique,

des hormones telles que les glucocorticoïdes et la progestérone, et des cytokines dont l'IL-10 et le facteur de stimulation des colonies de granulocytes et de macrophages (GM-CSF) (Onno *et al.*, 2000).

Dans le locus *HLA-G*, la région amplificateur A (EnhA), qui permet l'interaction avec le facteur nucléaire *k-light-chain-enhancer* des cellules B activées (NF- $\kappa$ B) de la famille des facteurs de transcription, se lie uniquement aux homodimères p50/p50 (Gobin et Van Den Elsen, 2000).

#### 4. HLA-G en situation physiologique de grossesse

Des expériences *in vitro* ont montré que HLA-G peut contribuer à la suppression du système immunitaire maternel ; par conséquent, un fœtus semi-allogène serait accepté pendant la grossesse (Tripathi *et al.*, 2007). Il a été démontré qu'il se lie au transcrit de type immunoglobuline (ILT)-2 et au récepteur inhibiteur (KIR) 2DL4 sur les cellules NK et confère une protection aux trophoblastes extravilloux (EVT) (Bhalla *et al.*, 2006).

Dans le cadre de la grossesse, HLA-G interagit avec un autre récepteur, KIR2DL4, qui est principalement exprimé par les cellules NK utérines. L'interaction de HLA-G avec KIR2DL4 est clairement différente de celle avec ILT-2 et ILT-4, et son rôle pendant la grossesse est actuellement en train d'émerger (Le Maoult et Yan, 2021).

En effet HLA-G a été reconnu comme le ligand du récepteur tueur de type immunoglobuline (KIR) 2DL4 (Fainardi *et al.*, 2011), membre des KIRs. Les KIR sont des protéines transmembranaires spécifiques à l'homme modulant les activités des cellules NK humaines), dont certaines sont membres des récepteurs inhibiteurs (Kumar, 2018). Les cellules NK humaines expriment deux classes principales de récepteurs inhibiteurs, les membres inhibiteurs de KIR et l'hétérodimère CD94-NKG2A (Bai *et al.*, 2020).

Trois rôles de HLA-G ont été trouvés pendant la grossesse. HLA-G interagit avec ILT2 et KIR2DL4 sur les macrophages et les cellules NK pour augmenter la production de cytokines proangiogéniques et pour augmenter l'invasion EVT de la caduque, favorisant ainsi le remodelage de l'artère spirale. De plus, HLA-G sur les EVT pourrait induire la production de facteurs favorisant la croissance par les cellules NK déciduales, régulant ainsi la croissance fœtale (Xu *et al.*, 2020).

## 5. HLA-G et infertilité

Plusieurs chercheurs ont intégré les connaissances sur la génétique HLA-G avec la détection de la protéine HLA-G, avec l'objectif d'utiliser HLA-G comme bio marqueur de la prédisposition et de la progression de la maladie, ou de la réponse au traitement.

La capacité de HLA-G à améliorer l'établissement de la grossesse suggère que HLA-G peut jouer un rôle dans le traitement de l'infertilité en plus des maladies allergique et mastocytose (Bai *et al.*, 2020).

L'infertilité est associée au polymorphisme *HLA-G*. Les polymorphismes dans la région du promoteur *HLA-G* et 3'UTR influencent l'expression et la sécrétion de sa protéine soluble (Nowak *et al.*, 2020). Le manque d'expression des molécules de HLA-G par une cellule trophoblastique l'expose à une attaque par les cellules NK, ce qui peut entraîner une perte de maintien de la grossesse, entraînant une perte d'embryons sous forme de fausse couche récurrente inexplicée (Zhu *et al.*, 2010). En fait, l'insertion de 14 pb a été associée au développement d'une grossesse (Hviid *et al.*, 2004).

Bien que le polymorphisme du gène *HLA-G* soit faible, il peut influencer les niveaux d'expression des protéines et, dans certains cas, a été associé à des maladies gravidiques ; d'où l'intérêt d'étudier la relation entre le polymorphisme de délétion de 14 pb et les maladies de la grossesse (Xue *et al.*, 2007). Il est fort probable que l'allèle d'insertion de 14 pb puisse provoquer des changements dans le gène *HLA-G* qui, à leur tour, joue un rôle important dans la détermination du résultat d'une grossesse (Arjmand et Samadi, 2016).

De plus, il existe un assez bon consensus sur l'association du génotype I/I à 14 pb avec l'infertilité féminine (Monti *et al.*, 2019).

Les allèles polymorphes de *HLA-G* n'ont pas d'effets dominants ou négatifs sur la fonction des gènes, mais ces allèles ont un effet prédisposant sur certains processus liés à la réponse immunitaire tels que l'échec de l'implantation ou l'avortement spontané (Enghelabifar *et al.*, 2014). Par conséquent, l'association des variant génétiques dans la région 3' UTR de *HLA-G* soutient la pertinence d'effectuer un dépistage génétique 3'UTR *HLA-G*, non limité à un polymorphisme spécifique, mais en considérant les haplotypes étendus, comme un prédictateur possible de l'issue de la grossesse (Amodio *et al.*, 2016). En effet HLA-G est un biomarqueur non invasif est nécessaire qui indiquera dès que possible si le transfert d'embryon est réussi ou non, ou s'il existe des complications entraînant une fausse couche (Nowak *et al.*, 2020).

## IV- Prise en charge de l'infertilité idiopathique

Jusqu'à 30% des couples à la recherche des traitements de fertilité sont finalement diagnostiqués avec une infertilité inexplicée, d'où le recours aux techniques d'assistance médicale à la procréation (AMP) comprenant les inséminations intra-utérines (IIU), les FIV, les injections intra-cytoplasmiques des spermatozoïdes (ICSI) (Jonhson *et al.*,2013).

### 1. Insémination intra utérine

L'IIU avec le sperme du conjoint est la plus ancienne des techniques. Elle est envisagée dans le cas de certaines infertilités inexplicées ou liées à certaines altérations de la glaire cervicale ou du sperme (Belaisch-Allart et Buxeraud., 2017). Le plus souvent, un traitement de stimulation de l'ovulation préalable est prescrit à la femme afin d'obtenir le développement de follicules. La fécondation se fait selon le processus naturel « in vivo ». Le sperme est préparé au laboratoire le jour de l'insémination, il s'agit soit de sperme frais ou congelé du partenaire. L'introduction de spermatozoïdes lavés dans la cavité utérine à l'aide d'IIU peut augmenter la densité des spermatozoïdes mobiles disponibles pour les ovocytes ovulés, ce qui devrait maximiser les chances de fécondation (Quaas et Dokras, 2008). Les taux de grossesses cliniques par cycle d'IIU après stimulation ovarienne varient est assez variable, compris entre 10 à 20 % par cycle (Massin *et al.*,2004).

### 2. La fécondation *in vitro*

Les principales indications de la FIV classique sont : l'infertilité tubaire, l'altération modérée du sperme, l'endométriose sévère, les troubles majeurs de l'ovulation, l'infertilité idiopathique et l'échec des inséminations intra utérines (Antoine,2012).

La technique de la FIV nécessite une stimulation ovarienne, une préparation des gamètes puis leur mise en fécondation ainsi que le développement embryonnaire *in vitro* jusqu'au transfert dans la cavité utérine initialement créée pour traiter les infertilités d'origine tubaire, la FIV s'adresse désormais aux infertilités sans causes et masculines. Elle est ainsi devenue l'ultime thérapeutique de toutes les infertilités. Les techniques se sont progressivement allégées et les femmes ne sont plus hospitalisées que quelques heures pour la ponction ovocytaire (Barberet *et al.*, 2018).

La FIV se déroule en quatre étapes :

- obtention d'ovocytes matures (stimulation de l'ovulation, puis recueil d'ovocytes matures) ;
- préparation du sperme ;
- mise en fécondation et culture in vitro classique (FIV) ou assistée (ICSI) ;
- transfert in utéro du ou des embryons obtenu. (Belaisch-Allart et Buxeraud, 2017).

Les femmes souffrant d'infertilité inexplicée se voient souvent proposer une insémination intra-utérine (IIU) en tant que solution peu coûteuse et moins invasive avec stimulation comme alternative à la FIV. Cependant, il est suggère que l'âge des femmes et la durée de l'infertilité sont des facteurs importants pour proposer une thérapie spécifique à un couple. La prise en charge expectative pendant 2 ans est le meilleur choix pour un bon pronostic lorsque l'âge de la femme est inférieur à 30 ans. Les cycles d'insémination sans stimulation ovarienne (3-4 cycles) sont efficaces chez les femmes de moins de 35 ans, mais augmentent le risque de grossesses multiples (Isaksson et Tiitinen, 2004). En comparaison avec HSO/IIU hyper stimulation ovarienne (HSO), la FIV raccourcit le délai de grossesse et réduit le risque de grossesses multiples. L'échec de la fécondation est signalé dans 8,4 % à 22,7 % des cycles de FIV pour les couples présentant une infertilité inexplicée (Johnson *et al.*, 2013).

Toutefois, il a été observé que dans 5% à 25% des cycles de FIV réalisés pour infertilité inexplicée, la fécondation de l'ovocyte ne se produit pas avec l'utilisation de l'insémination. Cette condition, conduit à l'échec de la fécondation qui peut être émotionnellement et financièrement dévastatrice pour les patientes subissant une FIV. Plusieurs petites études ont montré que l'injection d'ovocytes avec du sperme par voie intracytoplasmique améliore le taux de la fécondation taux et diminue la probabilité de l'échec de fécondité (Tournaye *et al.*, 2002; Bungum *et al.*, 2004).

En effet Johnson et ses collaborateurs ont démontré que l'utilisation de l'ICSI peut augmenter les taux de fécondation et diminuer le risque de l'échec total de la fécondation chez les couples présentant une infertilité inexplicée bien définie (Johnson *et al.*, 2013).

Néanmoins, l'IIU ne soit pas systématiquement proposée pour les couples en infertilité inexplicée. Pourtant l'IIU avec stimulation ovarienne est un traitement sûr et efficace pour les femmes souffrant d'infertilité inexplicée et un pronostic défavorable pour une conception naturelle (Farquhar *et al.*, 2018). La prise en charge des couples infertiles de cause idiopathique nécessite un traitement individualisé. En outre, le principal problème

pour le traitement de ces couples est le désaccord des médecins sur la gestion de l'hypofertilité inexplicée. De nombreux spécialistes de l'infertilité ne connaissent pas les derniers protocoles et procédures approuvés par l'ESHRE (*European Society of Human Reproduction and Embryology*), l'ASRM (*American Society for Reproductive Medicine*), et d'autres sociétés pour la gestion de l'infertilité inexplicée (Sadeghi, 2015).

# **METHODOLOGIES**

### **I. Patientes et témoins**

#### **1. Recrutement des patientes**

20 femmes candidates pour IUI sont incluses dans cette étude, elles sont recrutées au niveau de l'Etablissement Public Hospitalier (EHP) mère-enfant de Sidi-Mabrouk, service de gynécologie obstétrique et d'assistance médicale à la procréation, Constantine. Leurs ADN constituent un pool stocké au sein du laboratoire de biologie et génétique moléculaire. La sélection de ces femmes 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 :

- chaque femme doit présenter une infertilité idiopathique.
- échec d'une IUI.

##### **1.2.Critères d'exclusion**

- Toutes les femmes qui présentent une infertilité primaire ou secondaire idiopathiques après avoir écarté toutes les causes possibles.
- Les données hormonales, ou cliniques étaient insuffisamment renseignées.

#### **2. Recrutement des témoins**

Les témoins sont recrutés à partir d'une population prise au hasard, supposée saine et fertiles, leurs âges s'échelonnent entre 22 à 49 ans. Les prélèvements sanguins ont été faits sur des tubes EDTA (Éthylène Diamine Tétracétique), après avoir reçu des explications sur les procédures et les objectifs de l'étude, et après avoir signé un consentement éclairé. Sont exclus de l'étude les témoins présentant 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 II) et en se référant au dossier médical qui représente le support de toutes les informations concernant l'histoire de la maladie, les circonstances de diagnostic ainsi que l'état biologique et clinique.

### **II. Etude moléculaire**

Notre étude moléculaire s'est effectuée selon deux étapes :

- une étape d'extraction de l'ADN au niveau du laboratoire de recherche de biologie moléculaire et cellulaire de l'université frères Mentouri Constantine 1,
- suivie d'une PCR directe (*polymerase chain reaction*) pour la recherche du polymorphisme I/D du gène de l'HLA-G au niveau du laboratoire de biologie moléculaire de la faculté SNV de l'université de frères Mentouri Constantine 1 et au niveau du CRBT (centre de recherche et biotechnologie).

### 1. Extraction d'ADN

#### 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. 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  $+4^{\circ}C$ .

#### 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 surnageant récupéré est traité par de l'éthanol pur, une pelote d'ADN est formée.

### 2. Génotypage d'HLA G

Le polymorphisme d'HLA G est une Délétion (D) ou une Insertion (I) d'un fragment de 14pb dans l'exon 8 du gène *HLA G*. La détermination du génotype a été effectuée selon une amplification par PCR suivie d'un contrôle de PCR sur gel d'agarose.

#### 2.1 Amplification par PCR du gène

Le principe de la PCR repose sur la synthèse de multiples copies d'une séquence d'ADN spécifique.

##### 2.1.1 Préparation du milieu réactionnel de la PCR

Un milieu réactionnel de PCR ou un mix de PCR d'un volume final de 10 µl a été préparé. Le mix comprend des désoxyribonucléotides triphosphates (dNTP 2 mM), une enzyme d'amplification in vitro (Taq polymérase), un environnement réactionnel (tampon, MgCl<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O) et deux amorces oligo nucléotidiques (Tableau 1).

**Tableau1: Amorces utilisées pour l'amplification du gène *HLA G***

Sens des amorces	Séquence nucléotidique
HLA GR	5' – GTGATGGGCTCTTTAAAGTGTCCACC - 3'
HLA GF	5' – GGAAGGAATGCAGTTCAGATGA – 3'

Après avoir préparé le mix de la PCR (Tableau 2) selon le nombre d'échantillon, nous avons pris 9 µl de ce mélange auquel nous avons rajouté 1 µl d'ADN dans chaque tube de PCR pour chaque sujet.

**Tableau 2 : Les composants réactionnels de la PCR**

Mix de PCR	Quantité en µl
Tampon 10X	1 µl
MgCl <sub>2</sub> (1,5 mM)	0,3 µl
dNTP (2mM)	1,6 µl
HLA GF (250 µg/µl)	1 µl
HLA GR (250 µg /µl)	1 µl
Taq polymérase (5U/µl) (Bioline)	0,08 µl
Eau distillée	4,02 µl
ADN	1 µl

### 2.2.2 Déroulement des cycles de la PCR

Le déroulement des cycles de la PCR a été assuré par un thermocycleur (*Eppendorf* du laboratoire de biologie et génétique moléculaire de l'université de frère Mentouri, *et Bio-rad* du CRBT) et les conditions d'amplification étaient comme suit :

Une dénaturation initiale à 94°C pendant 5 minute, suivie de 35 cycles de PCR, comprenant chacun une dénaturation à 94°C pendant 1 minute, une hybridation à 55 °C pendant 30 secondes, une élongation à 72°C pendant 30 secondes et enfin une élongation finale à 72°C pendant 5 minutes.

### 2.2.3 Préparation du gel d'agarose à 3,5%

Le gel est préparé en mélangeant 3,5g d'agarose et 100 ml du TBE (Tris Borate, EDTA) (Annexe VII) additionné de 20 µl de 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 où nous avons placé un peigne, avec le temps, le gel se polymérise à l'air libre.

### 2.2.4 Préparation du gel polyacrylamide à 10%

Les produits de PCR ont été analysés par séparation électrophorétique sur un gel de polyacrylamide à 10 % contenant du gel staine. Nous avons préparé le gel en plusieurs étapes :

- nous avons placé les espaceurs sur les bords de la 1<sup>ère</sup> plaque et nous avons mis la 2<sup>ème</sup> au-dessus de l'autre.
- dans l'espace entre les deux plaques nous avons ajouté, doucement, le gel qui contient 80ml de la solution stock A(Acrylamide) +B(Bisacrylamide) à 40%, 250 µl APS (Ammonium Per Sulfate) et 50µl TEMED (Tetra Methyl Ethene Diamine), ces deux derniers produits sont ajoutés au même temps dans la solution stock.
- nous avons placé un peigne et laisser le gel pour se polymériser à l'air libre.

### 2.2.5 Contrôle des produits de la PCR

#### - Sur un gel d'agarose

Le contrôle de la taille des fragments amplifiés a été réalisé par une électrophorèse horizontale sur un gel d'agarose à 3,5%.

#### - Sur un gel polyacrylamide

Nous avons également utilisé un gel polyacrylamide pour faire le contrôle. Les produits de PCR de l'exon 8 ont été analysés par séparation électrophorétique verticalement sur un gel de polyacrylamide à 10 % contenant du BET. Dans chaque puits du gel, nous avons déposé 10 µl de produit d'amplification. Parallèlement, un échantillon sans ADN (blanc : témoin), est inclus dans la série à amplifier et sert de contrôle négatif (-). Le dépôt se fait du côté cathode (-), et le système est soumis à une migration sous un courant de 50 volts pendant 45 minutes.

Après la migration, le gel est soumis au rayon UV dans un Transilluminateur. Les molécules de BET fixées à l'ADN émettent une lumière visible (fluorescence) et photographiable et permettent de visualiser les fragments amplifiés sous forme de

bandes fluorescentes. Ce contrôle permet aussi de confirmer l'amplification de notre ADN et d'exclure toute contamination d'ADN survenue au cours de la PCR grâce au puits contenant le 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 3).

**Tableau 3 : Tableau de contingence pour le calcul de l'odds ratio**

	<b>Patientes</b>	<b>Témoins</b>	<b>Total</b>
<b>Présence du facteur présumé du risque de maladie (exposés)</b>	a	b	a+b
<b>Absence du facteur présumé du risque de maladie (non exposés)</b>	c	d	c+d
<b>Total</b>	a+c	b+d	a+b+c+d

Le calcul de l'odds ratio se fait par la formule suivante : **OR = a x d / b x 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

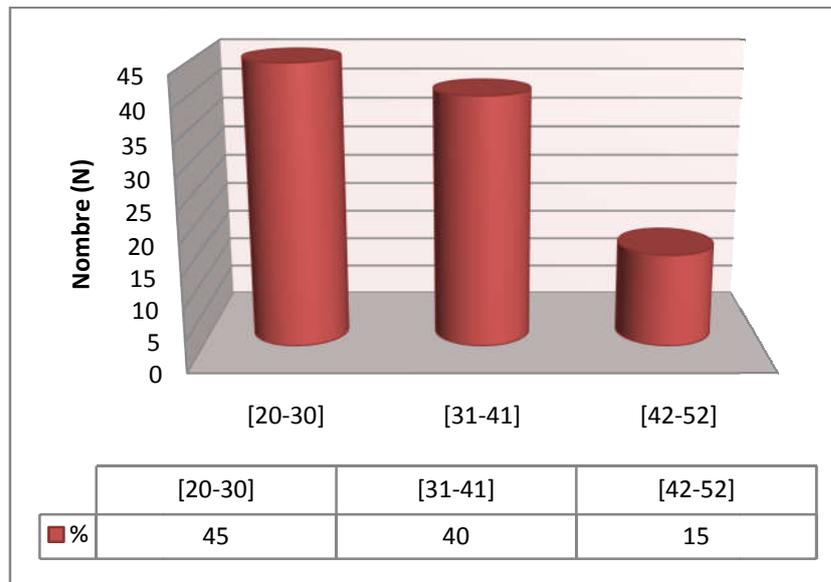
Pour tous les calculs, deux groupes de valeurs ont été considérés comme significativement différents si  $p < 0,05$ .

# **RESULTATS ET DISCUSSION**

## I. Caractéristiques épidémiologiques

### 1. Age

La moyenne d'âge de nos patientes est de  $33,4 \pm 4,87$  avec des extrêmes allant de 27 à 44 ans. La répartition par tranche d'âge révèle que la tranche d'âge la plus représentée est celle de 20 à 30 ans (Figure 10).



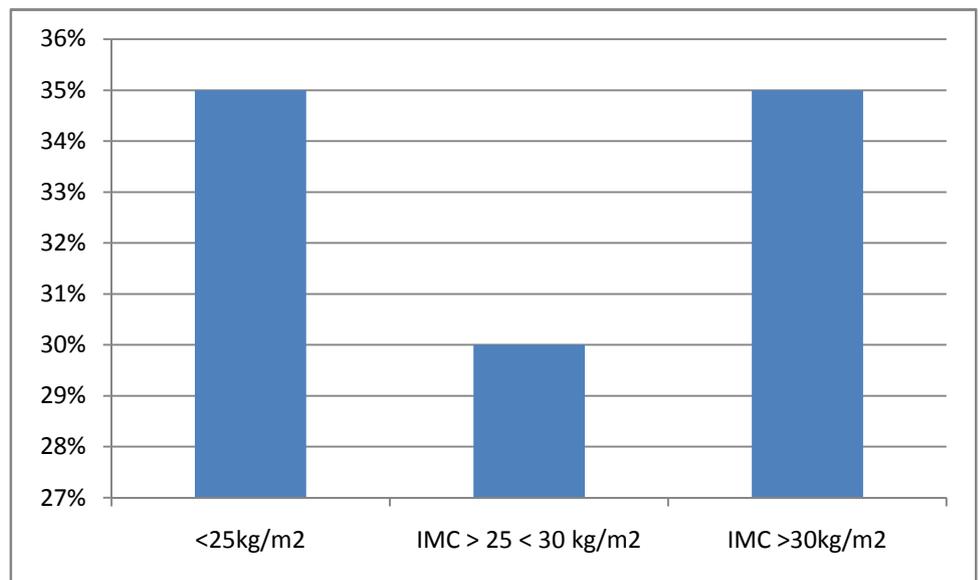
**Figure10:** Répartition des patientes selon la tranche d'âge

Ces groupes d'âge se rapprochent de ceux retrouvés par Yacouba (2008) où la tranche d'âge majoritaire était celle de 22-32 ans. Cependant, l'âge moyen est un peu plus élevé en Europe où il est de 33,9 ans (Rowe, 2006). L'âge moyen un peu plus faible peut être justifié par l'âge précoce de mariage de la jeune fille qui, après un mariage sans progéniture commence des examens pour évaluer la fonction reproductrice (Rowe, 2006). Toutefois, la fertilité, qu'elle soit spontanée ou médicalement assistée, chute autour de l'âge de 40 ans, puis s'effondre à partir de 45 ans. En plus de l'impossibilité d'obtenir une grossesse menant à une naissance vivante ; lorsque la femme atteint la quarantaine, le taux d'avortements spontanés augmente aussi, soit en raison d'une chute de la réceptivité endométriale, soit en raison d'une qualité ovocytaire diminuée, ou bien même des deux (Gougeon, 2005). Les capacités reproductives diminuent souvent des années avant la ménopause qui survient vers 50 ans dans les populations actuelles des pays développés et/ou déclinent fortement (Khoshnood *et al.*, 2009).

## 2. Indice de masse corporelle (IMC)

L'IMC a été stratifié selon la définition de l'OMS en trois groupes : poids normal (IMC < 25 kg/m<sup>2</sup>), en surpoids (IMC > 25 < 30 kg/m<sup>2</sup>) et obèses (IMC > 30 kg/m<sup>2</sup>).

La répartition de notre population d'étude révèle que 35% des femmes se situent dans la catégorie du surpoids (22,2 kg/m<sup>2</sup> >IMC <25 kg/m<sup>2</sup>). Des taux de 30% pour la catégorie du poids idéal (18,5 kg/m<sup>2</sup> >IMC < 25 kg/m<sup>2</sup>) ont été enregistrés. Nous avons noté aussi qu'il y a une prévalence de 35% chez les femmes pour la catégorie obèse (IMC ≥ 25 kg/m<sup>2</sup>) (Figure 11).



**Figure11** : Classification des patientes selon l'indice de masse corporelle

Nos résultats sont partiellement similaires à l'étude de Sathya *et al.* (2010) avec un pourcentage de 28,6% pour le groupe de poids normal, 47,7% pour le groupe en surpoids et 23,7% pour le groupe obèse.

Une étude qui a été réalisée sur la population saoudienne a révélé que l'IMC normal n'était trouvé que chez 16,8% des femmes alors que 27,8% étaient très obèses ce qui ne correspond pas à nos résultats, cela est dû probablement à la petite taille de notre échantillon (Isa *et al.*, 2014).

Selon les données de l'OMS, l'obésité touche 14,9 % des femmes dans le monde. En effet, pour chaque point d'IMC supérieur à 29 kg/m<sup>2</sup>, les chances de grossesse spontanée baissent de 5 %, principalement du fait des troubles de l'ovulation souvent associés (Steege *et al.*, 2008).

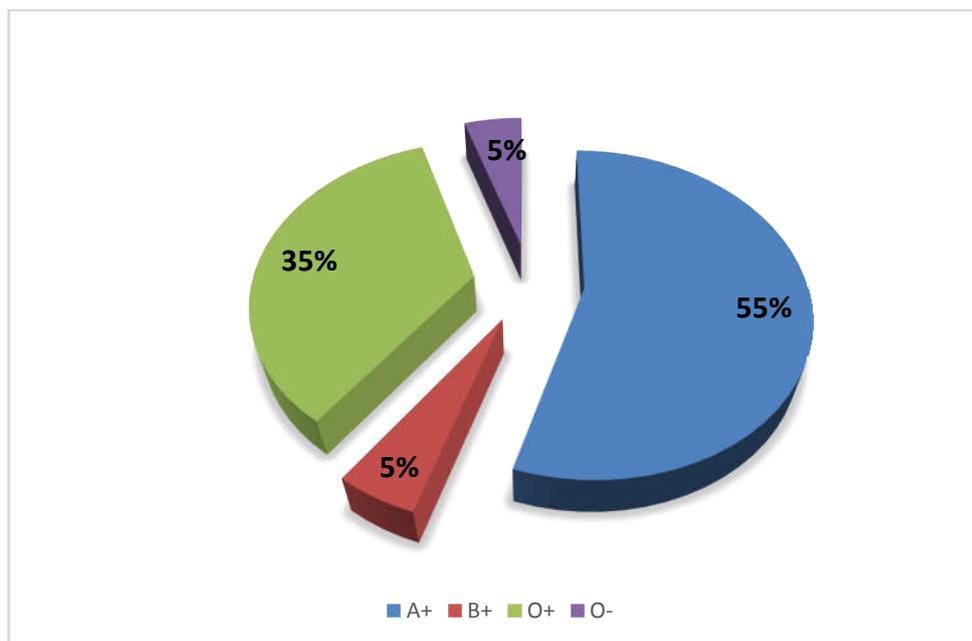
Par ailleurs, l'obésité est liée à un dysfonctionnement de l'ovulation qui conduit à une fécondation limitée et à des troubles menstruels, qui peuvent entraîner une altération de l'implantation (Teede *et al.*,2010).

Il est reconnu que l'obésité altère l'efficacité de toutes les thérapeutiques. Dans la population générale, le risque relatif d'infertilité par anovulation augmente avec l'IMC jusqu'à être multiplié par 3,7 pour un IMC supérieur à 32. La part du surpoids dans l'infertilité par anovulation est deux fois plus importante que celle de la maigreur (Rich-Edwards *et al.*,2002).

### 3. Groupes sanguins

La répartition de nos patientes selon le groupe sanguin montre que la proportion dominante est celle du groupe A (55%) suivie du groupe O+ (35%) puis du groupe B (5%) et 5% pour O<sup>-</sup>. Le taux du groupe AB est nul (0%) pour toute la population.

En ce qui concerne le système Rhésus, la figure montre des proportions élevées pour le Rhésus+ chez les femmes (95%) (Figure12).



**Figure12:** Répartition des patientes selon les phénotypes des systèmes sanguins ABO et Rhésus

Nos résultats sont similaires à ceux d'une étude qui a été réalisée sur des patientes principalement caucasiennes souffrant de syndrome d'hyperstimulation ovarienne après FIV, les auteurs ont retrouvé une prédominance du groupe sanguin A avec 57,8% et le groupe O avec 25,3% (Binder *et al.*,2008). Contrairement à Nejat *et al.* (2011), l'antigène

du groupe sanguin A semble être protecteur de la réserve ovarienne, alors que le groupe sanguin O semble être associé à la diminution de la réserve ovarienne (DRO), dans une relation indépendante de l'âge.

Une méta-analyse, a publiée en 2017, n'a déclaré aucune relation entre le groupe sanguin ABO et la réserve ovarienne (Deng *et al.*, 2017). D'autre part, les travaux de Lin et al. (2014) réalisés en 2017, ont suggéré que l'incidence de DRO était faible chez les femmes chinoises de groupe sanguin O et que la présence de l'antigène B (groupes sanguins B ou AB) était un facteur de risque de la DRO (Deng *et al.*, 2017).

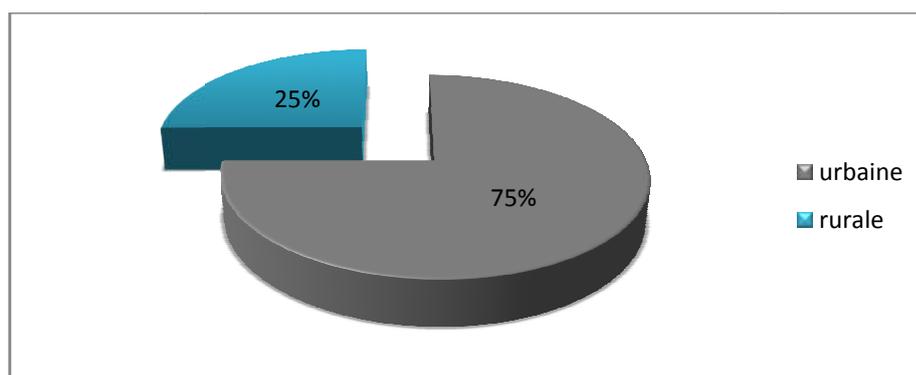
#### 4. Origine géographique

Les patientes qui ont été incluses dans cette étude proviennent de 5 régions géographiques différentes (Centre, Est, Ouest, Littoral méditerranéen, Sud) et de 10 villes de l'Algérie (Tableau4).

**Tableau 4:** Classification des patientes selon les régions et villes d'Algérie

Wilaya	Effectif	%
Constantine	10	50
Annaba	1	5
Oran	1	5
Sétif	1	5
Bordj Bou Arreridj	1	5
Oum el Bouaghi	1	5
El oued	1	5
El Taref	1	5
Khenchela	1	5
Skikda	2	10

Il est à noter que la majorité des femmes proviennent de la ville de Constantine avec une fréquence de 50%. 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, 75% de nos patientes sont d'origine urbaine (Figure 13).

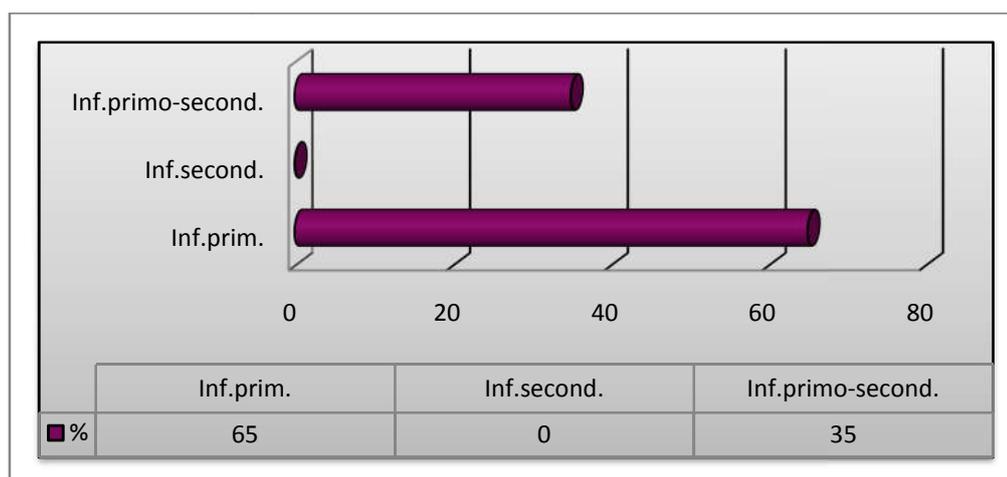


**Figure13:** Classification des femmes selon l'origine urbaine ou rurale

Dans une étude qui a été faite sur la population française, la plupart des femmes infertiles sont d'origine urbaine (68,32%) ce qui se rapproche des résultats obtenus (Pointeaux, 2020). Selon cette dernière étude, l'influence des grandes villes semble jouer un rôle important, elle représente une alerte sur une possibilité de colinéarité entre l'urbanisation et l'infertilité (Pointeaux, 2020).

### 5. Type d'infertilité

Sur l'ensemble de notre population, 13 femmes présentent une infertilité primaire, 7 femmes présentent une infertilité primo-secondaire soit des pourcentages respectifs de 65%, 35% (Figure13). L'infertilité secondaire est absente chez nos patientes.



**Figure 14:** Répartition des femmes selon le type d'infertilité

En comparant nos données avec celles de la littérature, la classification de l'infertilité varie selon la population d'étude. En Algérie, dans la région d'Annaba, les chercheurs ont indiqué 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 (2002), a montré que 87% des cas présentent une infertilité primaire, contre 13% avec une infertilité secondaire. Cependant, et contrairement à nos résultats, la prédominance de l'infertilité secondaire a été notée dans la population ghanéenne avec une fréquence de 60,6% alors que l'infertilité primaire a été notée dans 39,4% des cas (Nana *et al.*, 2016). Ces résultats sont également proches aux études réalisées au Mali et au Camerone, où l'infertilité secondaire représente 64,1% contre 35,9% pour l'infertilité primaire (Neossi-Guena *et al.*, 2012).

### 6. Age de puberté

L'âge moyen de puberté chez nos patientes est de 12,6 ans, avec des extrêmes de 9 ans à 16ans. Leur date de survenue est considérée comme physiologique.

Nous notons que chez la majorité des patientes (80%), l'âge de puberté se situe entre 11 ans et 14 ans (Figure15).

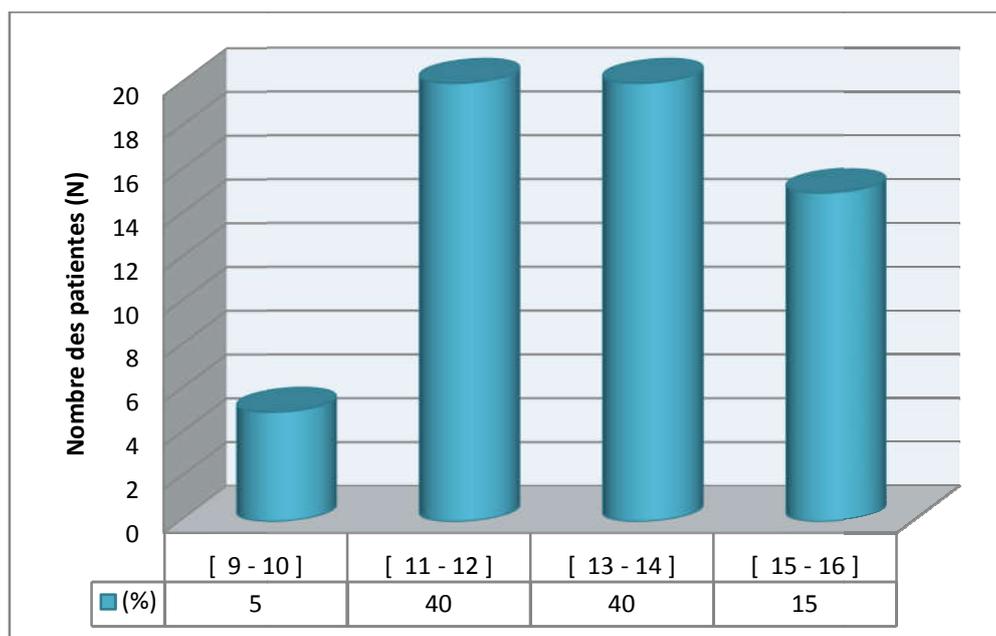


Figure 15: Répartition des femmes selon l'âge de puberté.

Nos résultats concordent avec ceux de Fedala *et al.* (2013), qui ont déclaré un âge moyen de début de la puberté de  $12,11 \pm 0,92$  [11 à 15 ans].

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. Une diminution particulièrement importante de l'âge des premières règles est observée dans la plupart des pays occidentaux (Parent *et al.*, 2003).

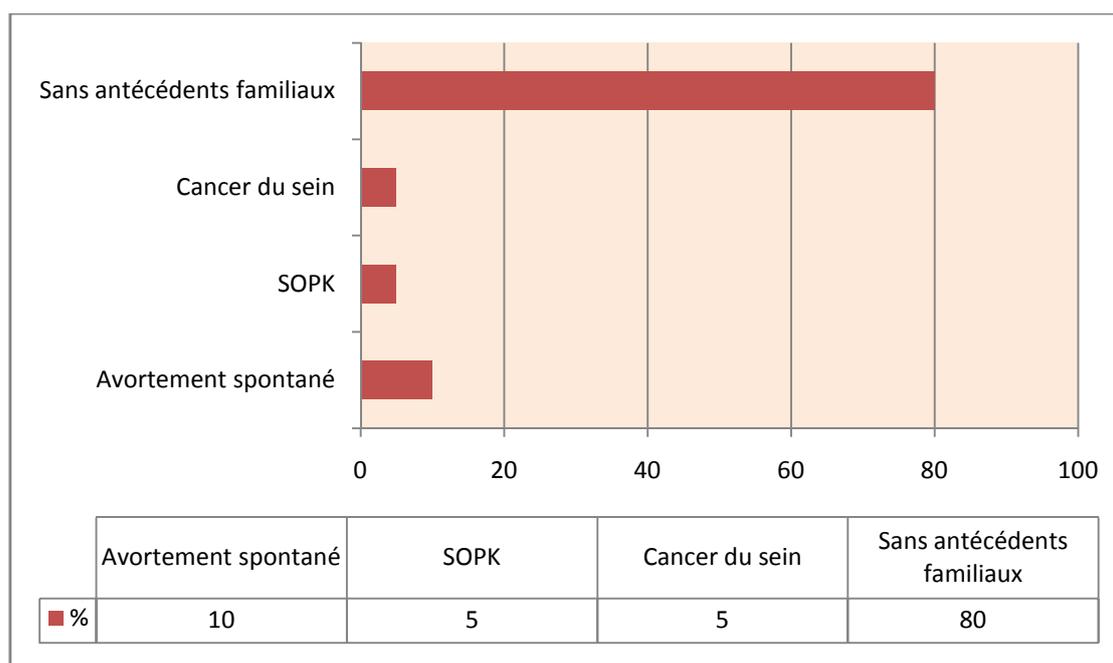
La puberté chez la fille algérienne urbaine est avancée par rapport à celui des années antérieures (12,9 vs 14,6). Cela est expliqué par une meilleure nutrition et une hygiène de vie plus adéquate (Fedala *et al.*, 2013).

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).

### 7. Antécédents familiaux

Sur les 20 patientes que nous avons recrutées, plus de la moitié, à savoir 80% des patientes ne présentent pas d'antécédents familiaux.

Par ailleurs, 10% des patientes ont des cas d'avortement spontané dans leurs familles, le reste des antécédents comme le cancer du sein et le SOPK se réparti de façon égale (5%) (Figure 16).



**Figure 16 :** Répartition des patientes selon les antécédents familiaux

Notre répartition des antécédents familiaux est différente de celle avancée par Maï (2016) dans la région d'Oran et Sidi Bel Abbes, 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 avec un problème d'infertilité, alors que pour les femmes qui avaient un frère ou un oncle, 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).

Les femmes ayant des antécédents familiaux sont plus susceptibles de développer des problèmes d'infertilité principalement en raison de maladies génétiques inhérentes (Katole et Saoji, 2019).

Concernant les résultats des antécédents familiaux avec cancer du sein, nos résultats sont différents de ceux de Gerdolle (2015), qui ont évoqué que 33% des patientes avaient des antécédents de cancer du sein. Ceci pourrait laisser supposer que des facteurs environnementaux ont un lien sur le développement du cancer du sein.

Les femmes ayant des antécédents de fausse couche étaient plus susceptibles d'avoir des fausses couches. Dans la population générale, le risque des avortements spontanés est de 12 à 15 % (Modvig *et al.*, 1990). Nos résultats sont semblables à ceux de Miskovic et al. (2012) où le pourcentage de fausses couches était de 8%.

Une méta-analyse a été publiée en 2020 par Woolner et al, a révélé une association entre la présence d'antécédents familiaux de fausse couche chez les femmes qui font une fausse couche. Néanmoins, cette association qui a été avancée suggère que la prédisposition familiale peut avoir un rôle dans l'étiologie de la fausse couche.

Nonobstant, plus de 50 polymorphismes génétiques maternels se sont avérés être associés à des fausses couches récurrentes. Il est possible que de nombreux gènes soient impliqués, ou même que des différences dans l'expression ou la signalisation des gènes puissent contribuer au risque de fausse couche ; soit par le biais de polymorphismes géniques spécifiques, soit via des translocations chromosomiques, il est possible qu'une telle prédisposition génétique puisse être héritée par les familles (Shi *et al.*, 2017).

### **8. Antécédents médicaux personnels**

95% de notre cohorte ne présentent pas d'antécédents médicaux. En revanche, le diabète est le seul antécédent médical retrouvé chez nos enquêtées soit une fréquence de 5%.

Les patientes présentant un diabète de type 1 (DT1), ont une diminution significative de la fertilité, et notamment en cas de diabète apparu précocement, même si cette tendance tend globalement à s'amenuiser. Les causes de cette baisse de fertilité ont évolué avec le temps

et les progrès de la prise en charge du DT1, mais aussi avec la progression de l'« épidémie » de surpoids et d'obésité (Chabbert-Buffet, 2021).

Une étude a été réalisée au Qatar, a révélé que 62,5% des femmes infertiles étaient diabétiques (Musa et Osman, 2020). Même résultat a été confirmé par Moridi *et al.* (2019), où le diabète de type 2 est considéré comme une étiologie de l'infertilité féminine.

### 9. Antécédents chirurgicaux

Sur les 20 patientes de notre série, la majorité n'a pas d'antécédents chirurgicaux, à savoir 90% des cas. Le reste de la population possède comme antécédent, la kystéctomie et l'ablation des amygdales, avec un pourcentage de 5% (Tableau 6).

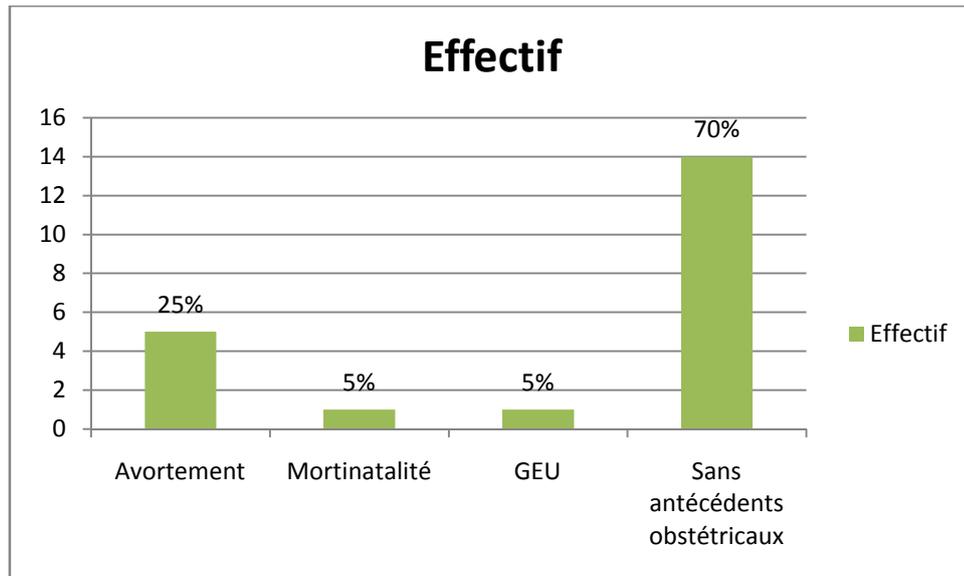
**Tableau 6:** Répartition des femmes selon les antécédents chirurgicaux

Antécédents chirurgicaux	Effectif
Ablations des amygdales	1
Kystéctomie	1
Sans antécédents chirurgicaux	18

Des études entreprises par certains auteurs ont affirmé que l'infertilité peut survenir après 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).

### 10. Antécédents obstétricaux

Sur un total de 20 patientes, 2 ont déjà fait des avortements, l'une avec 6 avortements en 2<sup>ème</sup> mois, une autre avec 3 avortements entre 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> mois, soit un taux de 10% (Figure 17).



**Figure 17:** 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'avait pas eu d'avortement. En 2011, Chinga et son équipe (2011) ont montré 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%.

Une autre étude a révélé que les antécédents de fausses couches ou de mortinatalité récurrentes étaient deux fois plus fréquents chez les femmes ayant une infertilité secondaire (Musa et Osman, 2020).

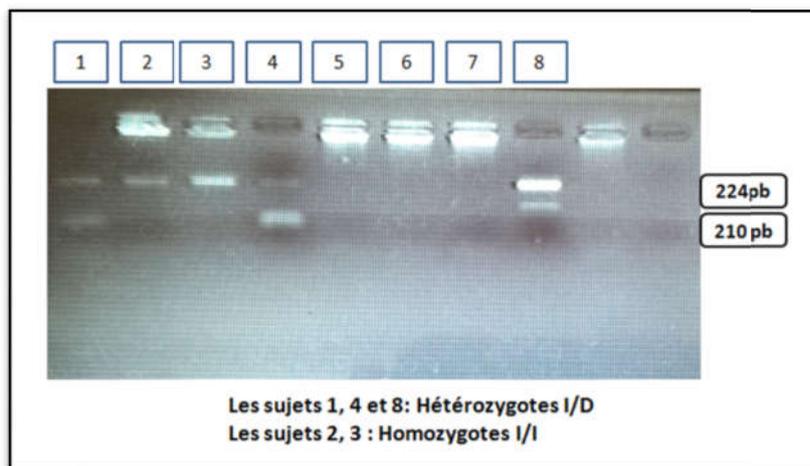
Selon les études qui ont été réalisées en France, parmi les femmes ayant des antécédents de grossesse extra utérine, 70 % d'entre elles parviendront à avoir une nouvelle grossesse dans les 2 ans, soit un taux proche de celui de l'ensemble des femmes. De plus, le traitement reçu ne modifie pas de façon significative cette chance de grossesse. En particulier, pour les grossesses extra-utérines les plus actives, un traitement chirurgical radical où la trompe est enlevée n'altère pas significativement leurs possibilités par la suite d'avoir une grossesse spontanée (CNGOF, 2013).

#### IV. Résultats de l'analyse moléculaire du polymorphisme I/D gène HLA-G

Les résultats de l'étude génétique du polymorphisme I/D du gène *HLA G* ont été relevés seulement pour 16 patientes à cause des problèmes rencontrés lors de la réalisation de la PCR.

La population considérée a été répartie en deux groupes : le groupe 1 (Patientes) regroupe 16 patientes, le groupe 2 (témoins) comportant 14 femmes présumées saines.

Le profil de l'électrophorèse a permis de déceler trois génotypes : l'homozygote DD présentant une bande de 210 pb ; l'homozygote II avec une bande de 224 pb et l'hétérozygote présentant à la fois les deux bandes de 210 pb et celle de 224 pb et cela pour les deux populations patientes et témoins étudiées (Figure 18).



**Figure 18** : Photographie du profil électrophorétique des fragments amplifiés par PCR du gène *HLA-G* sur gel d'agarose 3,5%.

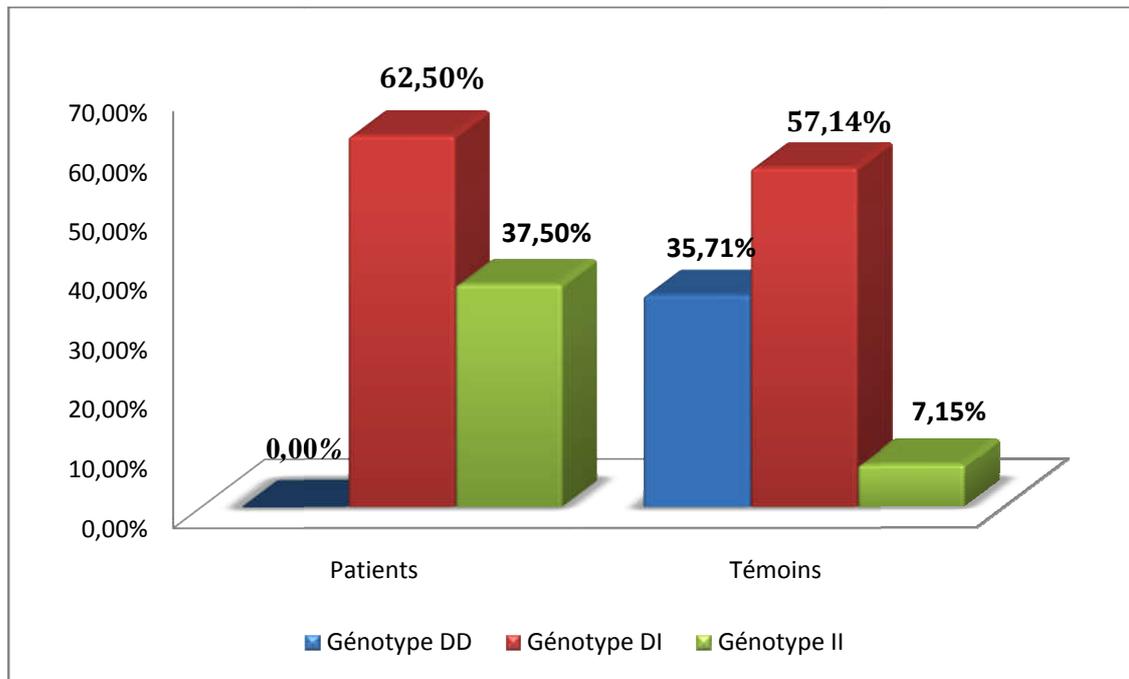
##### 1. Fréquences génotypiques et alléliques

À partir des résultats ainsi obtenus, les fréquences génotypiques et alléliques ont été calculées (Tableau 8, figure 19 et 20).

**Tableau 6** : Fréquences génotypiques et alléliques dans notre population

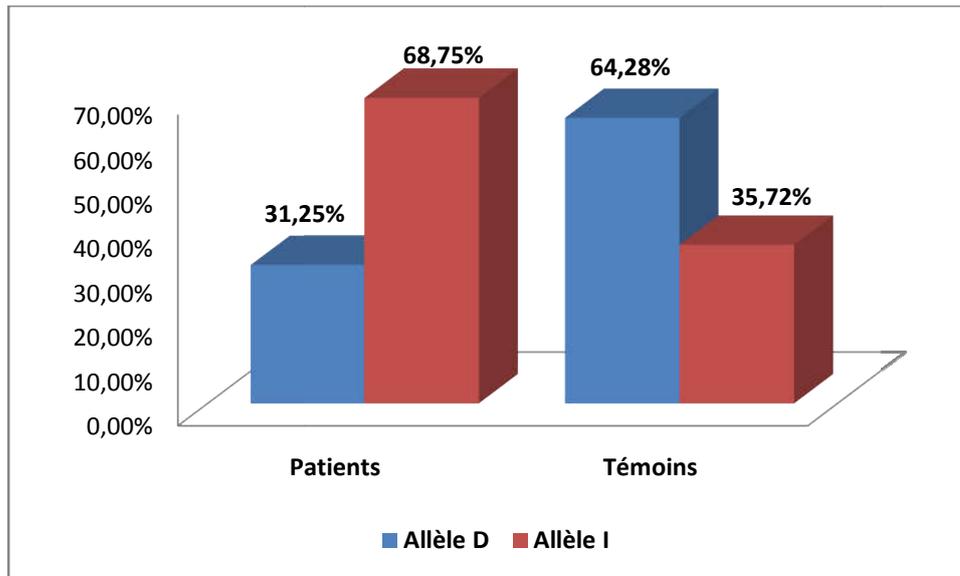
Patientes					Témoins				
DD	DI	II	D	I	DD	DI	II	D	I
0	10	6	10	22	5	8	1	18	10
0%	62,5%	37,5%	31,25%	68,75%	35,71%	57,14%	7,15%	64,28%	35,72%
16			32		14			28	
100%			100%		100%			100%	

L'analyse des résultats révèle une répartition des fréquences génotypiques et alléliques hétérogène entre les patientes infertiles et les témoins. En effet, le génotype homozygote DD est plus fréquent chez les témoins (35,71%) que chez les patientes (0%). A l'opposé, le génotype de l'homozygote II est plus fréquent chez les patientes (37,5%) que chez les témoins (7,15%). La fréquence du génotype DI est de 62,5% chez les patientes et de 57,14% chez les témoins. (Figure 19).



**Figure 19 :** 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 témoins mais le contraire pour les patientes (64,28% chez les témoins et 31,25% chez les patientes). L'allèle I est retrouvé à une fréquence relativement élevée chez les patientes (68,75%) et ce en comparaison avec les témoins (35,72%). (Figure 20).



**Figure 20:** Répartition des fréquences alléliques dans notre population

Une fois les fréquences génotypiques et alléliques calculées, 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 le variant étudié et l'infertilité féminine ( $p = 0,008$  pour DD versus II+DI;  $p = 0,049$  pour II versus DD+DI ;  $p = 0,03$  pour II versus DD et  $p=0.010$  pour I versus D) (Tableau 9).

Si nous considérons la fréquence allélique, l'allèle muté «I» est plus représenté chez les patientes que chez les témoins (0,68% vs. 0,35%). *Lap-value* est inférieure à 0,05. Statistiquement le polymorphisme R702W indique que l'allèle muté jouerait un rôle la susceptibilité é l'infertilité féminine.

**Tableau7 :** Résultats de l'analyse statistique du polymorphisme I/D du gène *HLA G* chez les patientes et les témoins

Modèle de comparaison	DD Vs II+DI	II Vs DD+DI	II Vs DD	II Vs DI	I Vs D
<b>OR</b>	0,0 (0-0,85)	7,80 (0,69-202,15)	//	4,80 (0,39-129,45)	3,96 (1,19-13,53)
<b>Risque relatif</b>	//	1,97 (1,13-3,44)	//	1,54 (0,92-2,57)	1,92 (1,11-3,33)
<b>P-value</b>	<b>0,008</b>	<b>0,049</b>	<b>0,03</b>	0,15	<b>0,010</b>

Dans la littérature scientifique, aucune étude antérieure sur la corrélation entre l'infertilité féminine idiopathique et le polymorphisme I/D du gène *HLA G*, n'a été réalisée jusqu'au 2021.

Une étude a été publiée en 2016, a révélé une association entre le polymorphisme I/D du gène *HLA-G* et les avortements spontanés dans la population iranienne, similaire à nos résultats, sur 200 sujets féminins stériles et 200 témoins, les résultats ont montré une association significative ( $p < 0,05$ ) : prédominance du génotype DI (79,5%) chez les patientes et les témoins (50%) (Arjmand et Samadi, 2016). Les résultats des fréquences alléliques, de cette étude, concordent avec nos résultats : une prédominance de la fréquence de l'allèle I chez le groupe des patientes dont la fréquence était de 88% (Arjmand et Samadi, 2016).

Concernant les études qui ont été réalisées en Europe, sur la population de l'Italie, du Danemark, de la France, de la Pologne et des Pays-Bas, l'association entre le polymorphisme I/D du gène *HLA G* et l'infertilité chez les femmes qui ont fait des avortements spontanés et répétitifs, est hautement significative (Hviid *et al.*, 2014 ; Amodio *et al.*, 2016 ; Nowak *et al.*, 2020 ; Meuleman *et al.*, 2018).

Alors qu'une méta-analyse qui a exploré 193 articles, les patientes recrutées dans toutes ces études, sont des femmes infertiles avec des avortements à répétitions et qui présentent un ou plusieurs échecs de l'implantation embryonnaire (EIR= échec d'implantation récurrent) après une FIV. Par ailleurs, l'étude statistique n'a révélé aucune association significative entre le polymorphisme D/I du gène *HLA-G* et le EIR dans tous les modèles génétiques de la population globale, mais une association significative a été rapportée dans la population d'origine caucasienne (Fan *et al.*, 2019).

Les allèles polymorphes de *HLA-G* n'ont pas d'effets dominants ou négatifs sur la fonction des gènes, mais ces allèles ont un effet prédisposant sur certains processus liés à la réponse immunitaire tels que l'échec de l'implantation ou l'avortement spontané (Enghelabifar *et al.*, 2014).

# **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 *HLA-G* qui présente, depuis quelques années, un intérêt particulier pour rechercher d'éventuelles associations entre les variants de ce gène avec plusieurs pathologies.

Notre travail de recherche avait pour but d'étudier l'infertilité féminine idiopathique dans la population algérienne d'une part et rechercher une association entre le polymorphisme I/D du gène *HLA-G* et l'infertilité féminine 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, la présence d'antécédents familiaux et les antécédents médicaux. 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'*HLA-G*, nous avons trouvé une prédominance du génotype DI (62,5%) chez les femmes infertiles par rapport aux témoins (57,14%), également une prédominance de la fréquence de l'allèle I (68,75%) chez les patientes, alors que l'allèle D (35,72%) est prédominant dans le groupe des témoins.

Les tests statistiques effectués ont montré une association significative entre le polymorphisme de l'*HLA-G* et la survenue de l'infertilité idiopathique dans notre cohorte. Par ailleurs, l'étude de corrélation génotype-facteurs de risque, a démontré que le polymorphisme I/D du gène n'est pas associé à aucun facteur de risque.

Par conséquent, une association entre le polymorphisme I/D est probable qui conduit à l'échec d'une grossesse biologique au vu de l'infertilité idiopathique. Le recours à l'IIU est recommandée vu qu'elle n'est pas invasive et moins onéreuse qu'une FIV.

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'*HLA-G*.
- étudier les autres gènes impliqués dans l'infertilité, comme : les gènes *NOBOX*, *GDF9* et *BMP15* et le gène *PATL2* qui contrôle la maturité ovocytaire, en prenant en considération les facteurs environnementaux, géographiques et ethniques.

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

### A

American College of Obstetrics and Gynecology 2019 Infertility workup for the women's health specialist: ACOG Committee Opinion, number 781. *Obstetrics and Gynecology* 133 e377–e384.

Amodio G & Gregori S, 2020. HLA-G Genotype/Expression/Disease Association Studies: Success, Hurdles, and Perspectives. *Frontier in Immunology*, 11.

Amodio G, Canti V, Maggio L, 2016. Association of genetic variants in the 3'UTR of HLA-G with Recurrent Pregnancy Loss. *Hum Immunol*, 77(10) 886-891.

Antoine J M, 2012. Quand passer en fécondation in vitro?. *Reproduction Humaine et Hormones*, 25(2), 33.

Arjmand F & Samadi M, 2016. Association of 14-bp insertion/deletion polymorphism of HLA-G gene with idiopathic recurrent fausses couches in infertility center patients in Yazd, Iran, *Journal of Immunotoxicology*, 13(2), 249-254.

Arnaiz-Villena A, Juarez I, Suarez-Trujillo F et al, 2020. HLA-G: Function, polymorphisms and pathology. *Int. J. Immuno genet*, 00, 1-21.

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

### B

Bai Y, Liang J, Liu W, Wang F & Li C, 2020. Possible roles of HLA-G regulating immune cells in pregnancy and endometrial diseases via KIR2DL4. *Journal of Reproductive Immunology*, 103176.

Barberet J, Boucret L, Fauque P & May-Panloup P, 2018. Assistance médicale à la procréation : techniques actuelles et nouveaux horizons. *Revue Francophone Des Laboratoires*, (504), 43-51.

Belaisch-Allart J & Buxeraud J, 2017. Assistance médicale à la procréation, techniques et protocoles. *Actual Pharm*, 7, 29-36.

Belley Priso E, Tchente Nguéfack C, Nguemgne C et al, 2015. L'infertilité féminine à l'Hôpital Général de Douala : aspects épidémiologiques et radiologiques (à propos de 658 cas). *Afr Imag Méd*. 2 (7), 16-23.

Ben W. Mol, Raissa Tjon-Kon-Fat, Esmé Kamphuis, Madelon van Wely, 2018. Unexplained infertility: Is it over-diagnosed and over-treated? *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 53, 20-29.

Barberet J, Chammas J, Bruno C et al, 2018. Randomized controlled trial comparing embryo culture in two incubator systems: G185 K-System versus EmbryoScope. *Fertility and sterility*, 109(2), 302-309.

Bergère M., Lombroso R., Gombault M et al, 2001. An idiopathic infertility with oocytes metaphase I maturation block: case report. *Human Reproduction*, 16(10), 2136-2138.

Bhalla A, Chicka M, Tucker W et al, 2006. Ca<sup>2+</sup>-synaptotagmin directly regulates t-SNARE function during reconstituted membrane fusion. *Nat Struct Mol Biol*, 13, 323-330 .

Binder, H., Flegel, W. A., Emran, J et al, 2008. Association of blood group A with early-onset ovarian hyperstimulation syndrome. *Transfusion clinique et biologique*, 15(6), 395-401.

Biswas L, Tyc K, El Yakoubi W et al, 2021. Meiosis interrupted: the genetics of female infertility via meiotic failure. *Reproduction*. 161, R13–R35

Brzakowski, M., Lourdel, E., Cabry, R et al 2009. Épidémiologie du couple infertile. *Journal de gynécologie obstétrique et Biologie de la reproduction*, 38, F3-F7.

Buckett W, Sierra S, 2019. The management of unexplained infertility: an evidence-based guideline from the Canadian Fertility and Andrology Society. *Reproductive Bio Medicine Online*, 39, 633-640.

Bungum L, Bungum M, Humaidan P & Andersen C Y, 2004. A strategy for treatment of couples with unexplained infertility who failed to conceive after intrauterine insemination. *Reproductive Bio Medicine*, 8(5), 584-589.

Buxeraud J, 2016. Le lupus érythémateux systémique. *Actualités pharmaceutiques*; 560:45.

### C

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

Carosella E D, Rouas-Freiss N, Tronik-Le Roux et al , 2015. HLA-G: an immune checkpoint molecule. *Advances in immunology*, 127, 33-144.

Carosella E D, 2014. "HLA-G : from foeto-maternal tolerance to organ acceptance." *Bulletin De L Academie Nationale De Medecine* .198(4-5), 801-812.

Cédrin-Durnerin, 2006 Cédrin-Durnerin I, 2006. Contre l'utilisation du citrate de clomifène dans les infertilités inexplicées. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*, 34, 61-65.

Chabbert-Buffet N, 2021. Diabète de type 1 et fertilité. *Médecine Des Maladies Métaboliques*, 15(4), 364–368.

Chaouat G, Petitbarat M, Dubanchet S et al, 2010. Tolerance to the foetal allograft? *American Journal of Reproductive Immunology*, 63(6), 624-636.

Cheloufi M, Wackenheim C, Dumestre-Perard C et al, 2018. Utilisation de l'hydroxychloroquine et de la prednisone en présence d'une auto-immunité sérique dans l'infertilité féminine. *Gynécologie Obstétrique Fertilité & Sénologie*, 46 : 112-117.

Chinen J & Buckley R H, 2010. Transplantation immunology: solid organ and bone marrow. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125(2), 324-335.

Chinga B W, 2011. Infertilité du couple: étude épidémio-clinique et évaluation de la prise en charge à Kisangani. Thèse en médecine chirurgie et accouchement.

Coat C, Perrin A, Talagas M et al , 2011. Azoospermie: prise en charge et résultats. À propos de 90 cas. *Progrès en Urologie*, 21 : 946-954.

### D

Daroui 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.

De Almeida B S, Muniz YC N, Prompt A H et al ,2018. Genetic association between HLA-G14-bp polymorphism and diseases: a systematic review and meta-analysis. *Human immunology*, 79 (10), 724-735.

Deng J, Jia M., Cheng, X et al ,2017. ABO blood group and ovarian reserve: a meta-analysis and systematic review. *Oncotarget*, 8(15) , 25628.

Desai N, Ludgin J, Sharma R et al , 2017. Female and Male .Gametogenesis. *Clinical Reproductive Medicine and Surgery* 3:19-45.

Dias, F.C., Bertol B.C, PorasI et al, 2018. The genetic diversity within the 1.4 kb HLA-G 5' upstream regulatory region moderately impacts on cellular microenvironment responses. *SciRep* , 8, 5652.

Donadi E A, Castelli E C, Arnaiz-Villena A, et al, 2011, Implications of the polymorphism of HLA-G on its function, regulation, evolution and disease association." *Cell Mol Life Sci*, 68(3): 369-395.

Dorling A, Monk N, Lechler R., 2000. HLA-G inhibits the trans endothelial cell migration of human NK cells: a strategy for inhibiting xenograft rejection. *Transplant Proc*, 32(5):938.

Dueholm M., Lundorf E., Hansen E. S et al, 2002. Accuracy of magnetic resonance imaging and transvaginal ultrasonography in the diagnosis, mapping, and measurement of uterine myomas. *American journal of obstetrics and gynecology*, 186(3), 409-415.

### E

Ellouze R & Guerhazi S, 2011. Le syndrome des anti-phospholipides. *Revue Francophone des Laboratoires*, 41: 83-88.

Enghelabifar M, Allafan S, Khayatzadeh J et al, 2014. Association of the maternal 14-bp insertion/deletion polymorphism in the histocompatibility leukocyte antigen G gene with recurrent implantation failure. *Iran J Reprod Med*, 12(9):641-6.

### F

Fainardi E, Castellazzi M, Stignani M et al, 2011. Emerging topics and new perspectives on HLA-G. *Cell. Mol. Life Sci*, 68, 433-451.

Fan W, Huang Z, Li S & Xiao Z, 2017. The HLA-G 14-bp polymorphism and recurrent implantation failure: a meta-analysis. *Assist Reprod Genet*, 34: 1559-1565.

Farquhar C. M, Liu E, Armstrong S, Arroll N et al ,2018. Intrauterine insemination with ovarian stimulation versus expectant management for unexplained infertility (TUI): a pragmatic, open-label, randomised, controlled, two-centre trial. *The Lancet*, 391(10119), 441–450.

Fedala N, Mekimene L, Bitam A et al ,2013. Détermination de l'âge de la puberté chez les adolescentes algériennes en milieu urbain. *Annales d'Endocrinologie*, 74(4), 454.

Ferreira, L. M. R, Meissner T. B, Tilburgs T & Strominger J. L., 2017. HLA-G: At the Interface of Maternal–Fetal Tolerance. *Trends in Immunology*, 38(4), 272-286.

Friedrich M, Jasinski-Bergner S, Lazaridou M.F et al , 2019. Tumor-induced escape mechanisms and their association with resistance to checkpoint inhibitor therapy. *Cancer Immunol.Immunother.* 68, 1689-1700.

Fuzzi B, Rizzo R, Criscuoli L et al, 2002. HLA-G expression in early embryos is a fundamental prerequisite for the obtainment of pregnancy. *Eur J Immunol* ,32(2):311-5.

### G

CNGOF,2013 Collège national des gynécologues et obstétriciens français.

Gallegos C. E, Michelin S, Dubner D & Carosella E. D,2016. Immunomodulation of classical and non-classical HLA molecules by ionizing radiation. *Cellular Immunology*,303:16-23.

Geraghty D E ,Koller BH & Orr HT,1987. A human major histocompatibility complex class I gene that encodes a protein with a shortened cytoplasmic segment. *Proceedings of the national academy of sciences*, 84(24), 9145-9149.

Gerdolle O, 2015. Grossesse après un cancer du sein : étude de la prise en charge de six patientes au sein de la maternité du Centre Hospitalier Régional Universitaire de Nancy entre 2002 et 2013. *Médecine humaine et pathologie*. fhal- 01834550.

Gibson D. M & Myers, J. E, 2000. Gender and infertility: A relational approach to counseling women. *Journal of Counseling & Development*, 78(4), 400-410.

Gobin S J & van den Elsen P.J, 2000. Transcriptional regulation of the MHC class II genes HLA-E, HLA-F, and HLA-G. *Human immunology*, 61(11) ,1102-1107.

Gougeon A, 2005. The biological aspects of risks of infertility due to age: the female side. *Rev Epidemiol Sante Publique* 53: 2S37-2S45.

Graziottin A & Gambini D, 2015. Anatomy and physiology of genital organs women. *Handbook of Clinical Neurology*, 130: 39-60.

### H

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

Hanssens S, Salzet M & Vinatier D, 2012. Aspects immunologiques de la grossesse. *Journal de gynécologie obstétrique et biologie de la reproduction*, 41(7), 595-611.

Hechtman L, 2020. Infertility, Female. *Textbook of Natural Medicine*, (pp. 1431-1452).

Hviid T.V. F, Hylenius S, Rørbye C & Nielsen L. G, 2003. HLA-G allelic variants are associated with differences in the HLA-G mRNA isoform profile and HLA-G mRNA levels. *International Immunology*, 27(6), 289-296.

### I

Ilsley N.P, DaSilva-Arnold S.C, Zamudio S, Alvarez M & Al-Khan A, 2020. Trophoblast invasion: Lessons from abnormally invasive placenta (placenta accreta). *Placenta*, 102 : 61-66.

INSERM, 2007. Croissance et puberté : Évolutions séculaires, facteurs environnementaux et génétiques. Collection Expertise Collective, Éditions Inserm.

Isa AM, Abu-Rafea B, Alasiri SA et al, 2014. Age, body mass index, and number of previous trials: are they prognosticators of intra-uterine-insemination for infertility treatment? *Int J Fertil Steril*, 8(3), 255-260.

Isaksson R, Tiitinen A, 2004. Present concept of unexplained infertility. *Gynecol Endocrinol*, 18(5):278-90.

### J

Johnson L N, Sasson I E, Sammel M D & Dokras A, 2013. Does intracytoplasmic sperm injection improve the fertilization rate and decrease the total fertilization failure rate in couples with well-defined unexplained infertility? A systematic review and meta-analysis. *Fertility and sterility*, 100(3), 704-711.

### K

Katole A & Saoji AV, 2019. Prevalence of primary infertility and its associated risk factors in urban population of central India: A community-based cross-sectional study. *Indian journal of community medicine: official publication of Indian Association of Preventive & Social Medicine*, 44(4), 337-341.

Kayem G & Batteux, 2008. Immunologie de la grossesse. *La Presse Médicale*, 37(11), 1612-1619.

Kehila M, Ben-Hmid R, Ben-Khedhed S et al, 2014. Concordance et apports de l'hystérosalpingographie et de la cœlioscopie dans l'exploration tubaire et pelvienne en cas d'infertilité. *Pan African Medical Journal*, 17 : 126.3567.

Khoshnood B, Bouvier-Colle M.-H, Leridon H & Blondel B, 2009. Impact de l'âge maternel élevé sur la fertilité, la santé de la mère et la santé de l'enfant. *La Revue Sage-Femme*, 8(3), 145-160.

Kouamé N, N'goan-Domoua A-M, Konan N et al, 2012. Apport de l'échographie transvaginale associée à l'hystérosalpingographie dans la recherche étiologique de l'infertilité féminine à Abidjan (Côte d'Ivoire). *African Journal of Reproductive Health* Decemb, ; 16(4): 43-49.

Kovats S, Main EK, Librach C et al, 1990. A class I antigen, HLA-G, expressed in human trophoblasts. *Science*, 248, 220-3.

Kumar S, 2018. Natural killer cell cytotoxicity and its regulation by inhibitory receptors. *Immunology*, 154(3), 383-393.

### L

L'Herminé-Coulomb A, 2005. Examen du placenta. *EMC-Gynécologie Obstétrique*, 2 : 242-260.

Lansac J & Guerif F, 2005. AMP: l'assistance médicale à la procréation en pratique. Paris : Ed. Elsevier Masson.

Larsen M. H , Hylenius S, Andersen A. M. N & Hviid, T. V. F, 2010. The 3'-untranslated region of the HLA-G gene in relation to pre-eclampsia: revisited. *Tissue antigens*, 75(3), 253-261.

Le Bouteiller P & Tabiasco J, 2006. Immunologie de la grossesse : faits nouveaux, *Medecine Science*, (22), ( 8-9), 745-750.

Le Maoult J & Yan WH, 2021. The Biological and Clinical Aspects of HLA-G *Frontiers in Immunology*, 12, 441.

Lepage J, Luton D & Azria E, 2015. Fausses couches spontanées à répétition. 10(2),

Limñana-Gras, R. M, 2017. Health and gender perspective in infertility. In *The Psychology of Gender and Health* (pp. 363-400). Academic Press.

Louis G. M. B , Lum K. J, Sundaram R et al ,2011. Stress reduces conception probabilities across the fertile window: evidence in support of relaxation. *Fertility and sterility*, 95(7), 2184-2189.

Lynge N L, Djuricic S, Hviid TV, 2014. Controlling the immunological crosstalk during conception and pregnancy: HLA-G in reproduction. *Front Immunol*, 5, 198.

### M

Maeda N, Izumiya C, Taniguchi K et al ,2012. Role of NK cells and HLA-G in endometriosis. *Front. Biosci*, 4, 1568-1581.

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.

Massin N, Cédrin-Durnerin I, & Hugues J N ,2004. Insémination intra-utérine: ovulation spontanée ou médicalisée?. *Gynécologie obstétrique & fertilité*, 32(10), 898-903.

Merviel P, Bouée S, Menard M et al, 2017. Quelles stimulations pour quelles femmes: le syndrome des ovaires polykystiques (SOPK). *Gynécologie Obstétrique Fertilité & Sénologie*, 45(11), 623-631.

Mesdag V, Salzet M, & Vinatier D, 2014. Le trophoblaste: chef d'orchestre de la tolérance immunologique maternelle. *Journal de gynécologie obstétrique et biologie de la reproduction*, 43(9), 657-670.

- Meuleman T, Drabbels J, van Lith JM et al, 2018. Lower frequency of the HLA-G UTR-4 haplotype in women with unexplained recurrent miscarriage. *Journal of reproductive immunology*, 126, 46-52.
- Miskovic S, Culic V, Konjevoda P & Pavelic J, 2012. Positive reproductive family history for spontaneous abortion: predictor for recurrent miscarriage in young couples. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 161(2), 182-186.
- Modvig J, Schmidt L & Damsgaard M T, 1990. Measurement of total risk of spontaneous abortion: the virtue of conditional risk estimation. *American journal of epidemiology*, 132(6), 1021-1038.
- Moffett A, Colucci F, 2015. Co-evolution of NK receptors and HLA ligands in humans is driven by reproduction. *Immunol. Rev*, 267, 283-297.
- Mol, B. W., Tjon-Kon-Fat, R., Kamphuis, E., & van Wely, M. (2018). *Unexplained infertility: Is it over-diagnosed and over-treated? Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*.
- Monti M, Lupoli R, Fernandez L M S et al, 2019. Association of human leukocyte antigen-G 14 bp polymorphism with recurrent pregnancy loss in European countries: a meta-analysis of literature studies. *Fertility and sterility*, 112(3), 577-585.
- Mor G, Abrahams VM. The immunology of pregnancy. In: Creasy R, Resnik R, Iams J, et al, editors. *Maternal-fetal medicine*. 7<sup>th</sup> edition. Elsevier, 2017.
- Morel O, 2012. Etude de la vascularisation utéro-placentaire par angiographie Doppler énergie tridimensionnelle : évaluations fondamentales de la technique sur modèles expérimentaux de brebis et lapines gestantes, et évaluations cliniques préliminaires chez la femme enceinte. *Biologie du développement*. Université Paris Sud.
- Moridi, A., Roozbeh, N., Yaghoobi, H., Soltani, S., Dashti, S., Shahrahmani, N., & Banaei, M, 2019. Etiology and risk factors associated with infertility. *Int J Women's Health Reprod Sci*, 7(3), 346-53.
- Musa S & Osman S, 2020. Risk profile of Qatari women treated for infertility in a tertiary hospital: a case-control study. *Fertility Research and Practice*, 6(1).

## N

- Nejat E J, Jindal S, Berger D, Buyuk E, Lalioti M & Pal L, 2011. Implications of blood type for ovarian reserve. *Human Reproduction*, 26(9), 2513-2517.
- Neossi-Guena Pratique de l'HystéroSalpingoGraphie à l'Hôpital Régional de Ngaoundéré
- Nana P. N. Wandji J. C. Fomulu J. N, 2011. Aspects Psycho-Sociaux chez des Patients Infertiles à la Maternité Principale de l'Hôpital Central de Yaoundé, Cameroun. *Clinics in Mother and Child Health*, 8(1):1-5.
- Nowak I, Wilczyńska K, Radwan P et al, 2020. Association of Soluble HLA-G Plasma Level and HLA-G Genetic Polymorphism With Pregnancy Outcome of Patients Undergoing in vitro Fertilization Embryo Transfer. *Frontiers in Immunology*, 10, 2982.
- Nazzal N. 2002. Approche biologique et thérapeutique d'infertilité masculine. Thèse de

doctorat en médecine. Faculté de médecine. Université d'Annaba, Algérie.

### O

Onno M, Pangault C, Le Fric G et al ,2000. Modulation of HLA-G Antigens Expression by Human Cytomegalovirus: Specific Induction in Activated Macrophages Harboring Human Cytomegalovirus Infection. *The Journal of Immunology*, 164(12), 6426-6434.

### P

Parent, A. S., Teilmann, G., Juul, A., Skakkebaek, N. E., Toppari, J., & Bourguignon, J. P,2003. The timing of normal puberty and the age limits of sexual precocity: variations around the world, secular trends, and changes after migration. *Endocrine reviews*, 24(5), 668-693.

Pillon F, 2012. Rôle des hormones sexuelles et hypothalamo-hypophysaires, et stérilité. *Actualités Pharmaceutiques*, 51 :12-15.

Pointeaux A, 2020. Recours aux traitements de l'infertilité en France Une étude géographique des déterminants contextuel.

Porcu G, Déchaud H, Hédon B, 2004. Réceptivité utérine et implantation embryonnaire : Apport de l'échographie et du doppler dans leur évaluation en fécondation in vitro. *Revue de la littérature et mise au point. EMC - Gynécologie-Obstétrique*, 1 :145-155.

### Q

Quaas A, Dokras A, 2008. Diagnosis and treatment of unexplained infertility. *Rev Obstet Gynecol*, 1 (2), 69-76.

### R

Ravel C, Kazdar Net Leveque J, 2016. Fertilité et insuffisance ovarienne : de nouveaux traitements en perspective ? *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*, 44, 56-62.

Rich-Edwards J W, Spiegelman D, Garland M, Hertzmark E, Hunter, & al ,2002. Physical activity, body mass index and ovulatory disorder infertility. *Epidemiology*, 13(2), 184-190.

Rizzo R, Andersen A S, Lassen MR et al, 2009. Soluble human leukocyte antigen-G isoforms in maternal plasma in early and late pregnancy *American Journal of Reproductive Immunology*, 62(5), 320-338.

Rizzo R, Bortolotti D, Fredj N et al , 2012 . Role of HLA-G 14bp deletion/insertion and +3142C>G polymorphisms in the production of sHLA-G molecules in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Hum Immunol*, 73, 1140-6.

Robertson S A, Petroff M G, J Shunt, 2015. *Immunology of Pregnancy*. 4 Elsevier .

Robinson J, Halliwell J A, Hayhurst J D, Flicek P, Parham P & Marsh S G, 2015 The IPD and IMGT/HLA database: allele variant databases. *Nucleic acids research*, 43(D1), D423-D431.

Rouas-Freiss N, Moreau P, Le Maout J et al , 2021. Role of the HLA-G immune check point molecule in pregnancy. *Human Immunology*, 82(5), 353-361.

Rousseau P, Le Discorde M Mouillot G Marcou C Carosella E D & Moreau P, 2003. The 14 bp Deletion-Insertion polymorphism in the 3' UT region of the HLA-G gene influences HLA-G mRNA stability. *Human Immunology*, 64(11), 1005-1010.

Rowe T, 2006. Fertility and a woman's age. *J Reprod. Med*, 51 ,157-63. Zankoy Sulaimani. 15:137-142.

### S

and secondary female infertility in Alexandria: A hospital based case control study. *J Med Res Inst*, 27 : 255-6.

Sadeghi M, 2015. L'infertilité inexplicée, sujet controversé dans la prise en charge des couples infertiles. *J Reprod Infertile* ,16(1),1-2.

Samiha M, Ali H, Nehad M, Fayek E & 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.

Samiha N & Widad O, 2013. Etude de l'intérêt Clinique et immunologique de la désensibilisation dans le traitement des allergies: suivie de quelques cas des patients allergiques.

Sathya A, Balasubramanyam S, Gupta S & Verma T , 2010. Effect of body mass index on in vitro fertilization outcomes in women. *Journal of Human Reproductive Sciences*, 3(3), 135.

Shi Y, Yang D, Zeng Y & Wu W, 2017. Risk Factors for Post-stroke Depression: A Meta-analysis. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 9.

Shiina T, Blancher A, Hidetoshi I, et Jerzy K, 2017. Comparative Genomics of the Human, Macaque and Mouse Major Histocompatibility Complex , *Immunology* 150 (2): 127-38.

Shinga B-P, 2012. Infertilité Du Couple : Etude Epidémiologique Clinique Et Evaluation De La Prise En Charge A Kisangani. UNIKIS.

Soares SR, dos Reis MMBB & Camargos, AF, 2000. Précision diagnostique de la sonohystérogaphie, de l'échographie transvaginale et de l'hystérosalpingographie chez les patientes atteintes de maladies de la cavité utérine. *Fécondité et stérilité*, 73 (2), 406-411.

Stegg JW van der, Steures P, Eijkemans MJC, et al, 2008. Obesity affects spontaneous pregnancy chances in subfertile, ovulatory women. *Hum Reprod*, 23 ,324-8.

Swierkowski-Blanchard N & Wainer R, 2017. La reproduction humaine et son contrôle hormonal.

Szmelskyj I, Aquilina L & Szmelskyj A O, 2015. Anatomy and physiology of the reproductive system: Prerequisites for conception. *Acupuncture for IVF and Assisted Reproduction*, chapitre 2, (pp.23-58).

### T

Teede H, Deeks A, Moran L, 2010. Polycystic ovary syndrome: a complex condition with psychological, reproductive and metabolic manifestations that impacts on health across the lifespan. *BMC Med*, 8:41.

Tong M & Abrahams VM, 2020. Immunology of the Placenta. *Obstetrics and Gynecology Clinics*, 47(1), 49-63.

Tournaye, H., Verheyen, G., Albano, C et al , 2002. Intracytoplasmic sperm injection versus in vitro fertilization: a randomized controlled trial and a meta-analysis of the literature. *Fertility and sterility*, 78(5), 1030-1037.

### V

Vander Borght M & Wyns C, 2018. Fertility and infertility: Definition and epidemiology. *Clinical Biochemistry*, 62 : 2-10.

### W

Williams F, Meenagh A, Darke C et al, 2001. Analysis of the distribution of HLA-B alleles in populations from five continents. *Human immunology*, 62(6), 645-650.

Woolner A, M Nagdeve, P Raja E A, Bhattacharya S ,2020. Family history and risk of miscarriage: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica*, 99(12), 1584-1594.

### X

Xu X, Zhou Y & Wei H, 2020. Roles of HLA-G in the Maternal –Fetal I, Microenvironment materno-fœtal. *Frontiers in Immunology* , 11592010.

### Y

Yacouba T, prise en charge de l'infertilité secondaire dans le service de gynécologie-obstétrique du centre de santé de référence de la commune V du district de Bamako, 2008.

Yazbeck C, 2016. Infertilité du couple : la première consultation.

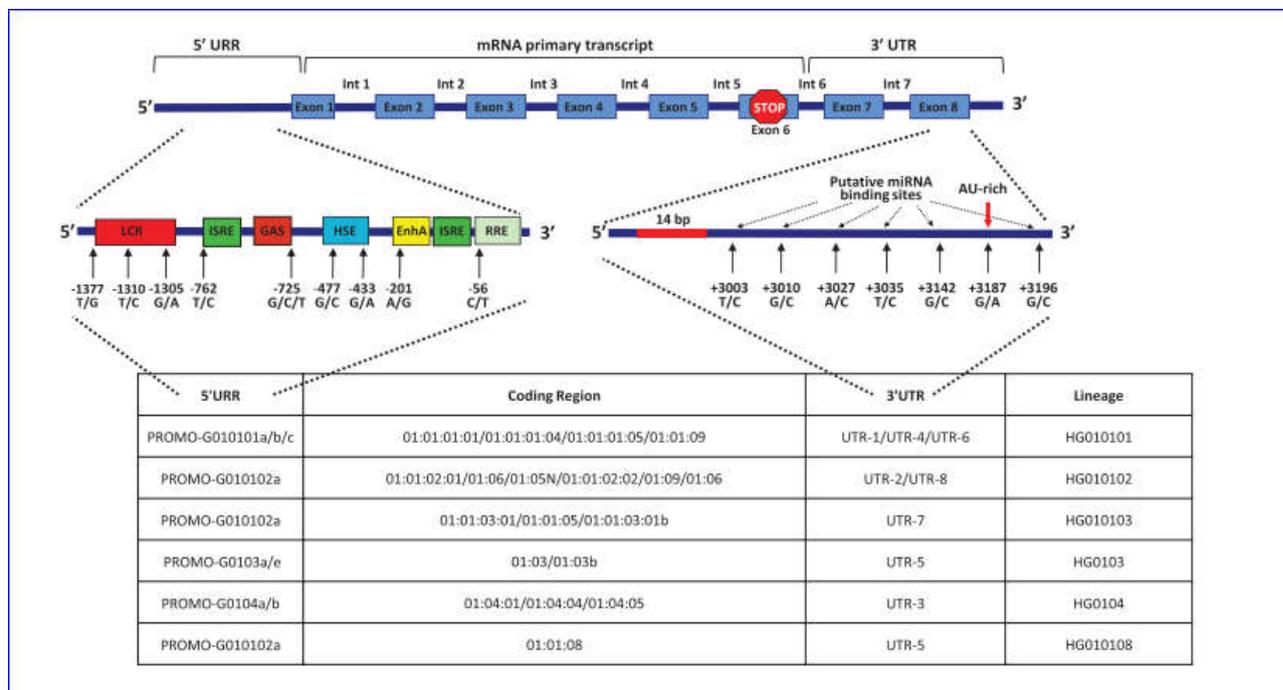
### Z

Zhu Y, Huo Z, Lai J, Li S et al, 2010. Case–Control Study of a HLA-G 14-bp Insertion-Deletion Polymorphism in Women with Recurrent Miscarriages. *Scandinavian journal of immunology*, 71(1), 52-54.

Zidi I, Ben Yahia H, Bortolotti D, Mouelhi L, Laaribi A b et al ,2015. Association between sHLA-G and HLA-G 14-bp deletion/insertion polymorphism in Crohn's disease. *Int Immunol*, 27(6),289-96.

# ANNEXES

## ANNEXE -I-



### Les haplotypes HLA-G les plus fréquents (Castelli,2014).

Les Polymorphismes les plus réponsés dans la région régulatrice en amont 5UR (URR) et de la région non traduite 3' (UTR) sont indiqués. Les sites de variation peuvent s'organiser en un nombre limité de combinaisons nommées comme suit : les haplotypes au 5'URR sont nommés PROMO-X ; les variations dans la région codante sont appelées allèles HLA-G ; les haplotypes au 3'UTR sont nommés UTR-X ; combinaisons du 5'URR et du 3'UTR. les haplotypes génèrent des lignées nommées HG-X.

LCR : région de contrôle du locus ; ISRE : élément de réponse stimulé par l'interféron; GAS : interféron gamma activé placer; HSE : élément de choc thermique ; EnhA, amplificateur A; RRE, élément de réponse Ras.

## Annexe -II-Fiche de renseignements

### 1. Antécédents familiaux :

Infertilité primaire: Oui  Non  je ne sais pas

Infertilité secondaire: Oui  Non  je ne sais pas

SAPL Oui  Non  je ne sais pas

SOPK Oui  Non  je ne sais pas

Avortements spontanés: Oui  Non  je ne sais pas

Ménopause précoce: Oui ... Non  je ne sais pas

Cancer du sein: Oui  Non  je ne sais pas

Pathologie thromboembolique: Oui  Non  je ne sais pas

Autres ATCD: Oui  Non  je ne sais pas

### 2. Antécédents personnels

#### ATCD médicaux

SOPK  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

Hystérocopie  Kystéctomie ovarienne

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 ? <input type="checkbox"/> Hirsutisme <input type="checkbox"/> Acné	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
--	------------------------------	------------------------------

- Autres.....

### ➤ Grossesses antérieures

- L'année.....

<input type="checkbox"/> Accouchement prématuré	<input type="checkbox"/> Accouchement à terme	<input type="checkbox"/> Interruption volontaire
de grossesse	<input type="checkbox"/> 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 : .....

.....

.....

### ANNEXE- III-

#### Protocole d'extraction de l'ADN (méthode au NaCl(Miller et al., 1988))

##### □ 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'oeil 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.

##### □ 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).

# RESUMES

## 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. L'infertilité est due à des facteurs féminins 30% des cas et 10% des cas de cause idiopathique. Le système immunitaire se modifie pendant la grossesse et tout aspect immunologique qui peut affecter l'implantation et le maintien de la grossesse peut causer des problèmes. Depuis quelques années un intérêt particulier avait été accordé au polymorphisme du gène de l'*HLA-G*.

**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 *HLA-G* et l'infertilité féminine.

**Méthodes :** Sur un total de 20 femmes (groupe1) ayant participé à cette étude ont été comparés à 14 témoins (groupe2). Après l'extraction de l'ADN leucocytaire, la séquence d'intérêt avait été amplifiée par PCR directe et analysée par électrophorèse.

**Résultats :** Dans notre étude, les trois génotypes sont représentés avec des fréquences génotypiques et alléliques variables ; après le calcul de l'OR et de la *p-value*, les résultats ont montré une association significative entre les deux groupes ( $p = 0,008$  pour DD versus II+DI;  $p = 0,049$  pour II versus DD+DI ;  $p = 0,03$  pour II versus DD et  $p=0.010$  pour I versus D)

**Conclusion :** Les tests statistiques effectués ont montré une association significative entre le polymorphisme de l'*HLA-G* et la survenue de l'infertilité idiopathique dans la population algérienne. Une étude prospective interventionnelle avec un effectif plus important est nécessaire pour juger de l'efficacité de tels traitements chez les patientes présentant une infertilité inexplicée afin de dégager des corrélations entre les paramètres mis en causes et le polymorphisme d'*HLA-G*.

## **Abstract**

Infertility, defined as the inability to conceive after one year of regular and unprotected sex, is a health issue that has a real impact worldwide. Infertility is due to female factors 30% of cases and 10% of cases of idiopathic cause. The immune system changes during pregnancy and any immunological aspect that may affect the implantation and maintenance of pregnancy can cause problems. In recent years, a special interest had been given to polymorphism of the HLA-G gene.

The objective of our study was to clarify the demographic, topographical and phenotypic characteristics and to examine possible associations between the genetic polymorphism I/D of the HLA-G gene and female infertility.

Methods: Out of a total of 20 women (Group 1) who participated in this study were compared with 14 controls (Group 2). Following leukocyte DNA extraction, the sequence of interest was amplified by direct PCR and analyzed by electrophoresis.

Results: In our study, the three genotypes are represented with variable genotypic and allelic frequencies; after the calculation of OR and p-value, the results showed a significant association between the two groups ( $p = 0.008$  for DD versus II+DI;  $p = 0.049$  for II versus DD+DI;  $p = 0.03$  for II versus DD and  $p=0.010$  for I versus D).

Conclusion: The statistical tests performed showed a significant association between HLA-G polymorphism and the occurrence of idiopathic infertility in the Algerian population. A prospective interventional study with a larger workforce is needed to judge the efficacy of such treatments in patients with unexplained infertility in order to identify correlations between implicated parameters and polymorphism *HLA-G*.

## ملخص

يُعرّف العقم بعدم القدرة على الإنجاب بعد سنة واحدة من ممارسة الجنس بصورة منتظمة وغير محمية، وهو مسألة صحية لها تأثير حقيقي في جميع أنحاء العالم. وتعتبر العوامل النسائية (30 %) هي السبب في هذه الحالات و 10 % من الحالات سببها غير معروف. يتغير الجهاز المناعي أثناء الحمل وأي جانب مناعى قد يؤثر على زرع الحمل والمحافظة عليه يمكن أن يسبب مشاكل. في السنوات الأخيرة، أولي اهتمام خاص لتعدد موروثات جين *HLA-G*.

**الهدف** من دراستنا هو توضيح الخصائص الديموغرافية والطبوغرافية والطبيعية وفحص الروابط الممكنة بين الأشكال الوراثية I/D لجين *HLA-G* والعقم لدى الإناث.

**طريقة العمل:** من بين 20 امرأة مصابة بالعقم (المجموعة 1) شارك في هذه الدراسة تمت مقارنتهن بأخريات لا تعانين من العقم 14 (المجموعة 2). بعد استخراج الحمض النووي لكريات الدم البيضاء، تم تضخيم تسلسل بواسطة PCR المباشر (تفاعل البوليمراز المتسلسل) وتحليله بواسطة رحلان كهربائي.

**النتائج:** في دراستنا، يتم تمثيل النماذج الجينية الثلاثة بترددات وراثية وأليلية متغيرة؛ وبعد حساب الموارد الأخرى والقيمة  $p$ ، أظهرت النتائج وجود ارتباط كبير بين المجموعتين ( $p = 0,008$ ) بالنسبة ل DD مقابل II + DI ؛  $p = 0,049$  ل II مقابل DD + DI ؛  $p = 0,03$  ل II مقابل DD و  $p = 0,010$  ل I مقابل D).

**الخلاصة:** أظهرت الاختبارات الإحصائية التي أُجريت وجود ارتباط كبير بين تعدد الأشكال I/D للجين *HLA-G* والعقم عند السكان الجزائريين. ستكون هناك حاجة إلى إجراء دراسة ذات عدد أكبر من المرضى محتملة للحكم على فعالية العلاج للذين يعانون من العقم غير المفسر بعد تحديد العلاقة بين العوامل المؤثرة وتعدد الأشكال للجين *HLA-G*.

Année universitaire : 2020-2021	Présenté par : DAOUI Aya HACINI Sarah
<b>Implication du polymorphisme I/D du gène <i>HLA-G</i> chez des femmes avec une infertilité idiopathique</b>	
<b>Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de Master en Génétique</b>	
<p>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. L'infertilité est due à des facteurs féminins 30% des cas et 10% des cas de cause idiopathique. Le système immunitaire se modifie pendant la grossesse et tout aspect immunologique qui peut affecter l'implantation et le maintien de la grossesse peut causer des problèmes. Depuis quelques années un intérêt particulier avait été accordé au polymorphisme du gène de <i>HLA-G</i>.</p> <p><b>Objectif</b> 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 <i>HLA-G</i> et l'infertilité féminine.</p> <p><b>Méthodes</b> : Sur un total de 20 femmes (groupe1) ayant participé à cette étude ont été comparés à 14 témoins (groupe2). Après l'extraction de l'ADN leucocytaire, la séquence d'intérêt avait été amplifiée par PCR directe et analysée par électrophorèse.</p> <p><b>Résultats</b> : Dans notre étude, les trois génotypes sont représentés avec des fréquences génotypiques et alléliques variables ; après le calcul de l'OR et de la <i>p-value</i>, les résultats ont montré une association significative entre les deux groupes (<math>p = 0,008</math> pour DD versus II+DI; <math>p = 0,049</math> pour II versus DD+DI ; <math>p = 0,03</math> pour II versus DD et <math>p=0.010</math> pour I versus D)</p> <p><b>Conclusion</b> : Les tests statistiques effectués ont montré une association significative entre le polymorphisme de <i>HLA-G</i> et la survenue de l'infertilité idiopathique dans la population algérienne. Une étude prospective interventionnelle avec un effectif plus important est nécessaire pour juger de l'efficacité de tels traitements chez les patientes présentant une infertilité inexplicée afin de dégager des corrélations entre les paramètres mis en causes et le polymorphisme d'<i>HLA-G</i>.</p>	
<b>Mots-clés</b> : système majeur d'Histocompatibilité (HLA), polymorphisme de l'ID, Infertilité féminine.	
<b>Laboratoires de recherche</b> : Laboratoire de biologie et génétique moléculaire	
<b>Président du jury</b> : Pr SATTI Dalila (Professeur - Université des Frères Mentouri, Constantine 1).	
<b>Rapporteur</b> : Pr CHELLAT Djalila (Professeur - Université des Frères Mentouri, Constantine 1).	
<b>Examineur</b> : Dr REZGOUN Mohammed Alarbi (MC.A- Université des Frères Mentouri, Constantine 1).	