

L'infertilité inexplicée : apports de la recherche fondamentale

Unexplained infertility: fundamental research contribution

● Sophie Perrier d'Hauterive ^(1,2), Valérie Sengers ⁽¹⁾, Vincent Geenen ⁽¹⁾

Le succès de la reproduction et de l'implantation embryonnaire conditionne la survie des mammifères. Les événements moléculaires intervenant dans l'apposition, l'adhésion, puis l'invasion de l'embryon dans l'endomètre maternel sont les sujets d'investigation de nombreux chercheurs. Des progrès considérables ont été réalisés en médecine de la reproduction depuis maintenant plus de 20 ans. Cependant, si des avancées majeures ont été réalisées dans certains domaines, comme l'avènement de nouvelles méthodes de fécondation in vitro (ICSI, *hatching*) ou d'évaluation de la qualité gamétique (et donc de leur potentiel implantatoire), de larges zones d'ombres persistent et l'implantation reste la "boîte noire" de la reproduction. Seuls 10 à 15 % des embryons replacés après procréation médicalement assistée (PMA) donnent naissance à un enfant vivant (1). On estime actuellement que 33 à 50 % des échecs sont directement dus à l'embryon, mais le facteur limitant principal est l'échec d'implantation. Essayer d'améliorer le taux de réussite en augmentant le nombre d'embryons transférés (en moyenne 2 à 3) engendre un risque accru de grossesses multiples avec toutes les conséquences obstétricales, périnatales, sociales et économiques que cela implique. Pour 80 % des couples infertiles, une étiologie – masculine, féminine ou mixte – peut être mise en évidence et, à l'heure actuelle, la plupart des obstacles de la fertilité humaine peuvent être contournés par le recours aux méthodes de PMA. Pour les 20 % restant, on ne retrouve aucune explication à leur infertilité. À côté d'anomalies frustes des gamètes ou de la fertilisation, il est probable que la majorité des infertilités inexplicées soit liée à des anomalies de la réceptivité utérine, de la tolérance maternelle ou du dialogue materno-fœtal. L'objectif principal de la recherche actuelle consiste donc en l'amélioration de la compréhension des différentes étapes de l'implantation afin d'augmenter les taux de réussite en PMA et réduire les écueils engendrés par les grossesses multiples. Une meilleure connaissance de l'implantation humaine est aussi cruciale pour définir la pathogénie non seulement des anomalies de l'implantation pouvant conduire à

l'infertilité, mais aussi celles en cause dans les fausses couches à répétition, le retard de croissance intra-utérin (RCIU) ou la pré-éclampsie.

L'ÉTUDE DE LA RÉCEPTIVITÉ ENDOMÉTRIALE : LA NOTION DE FENÊTRE IMPLANTATOIRE

L'implantation peut se produire dans n'importe quel tissu du corps humain, le plus souvent sans aucune transformation préalable de celui-ci. Paradoxalement, l'endomètre est un des rares tissus dans lequel l'embryon ne peut pas s'implanter, excepté au cours d'une période très limitée appelée fenêtre implantatoire, qui s'étend de J20 à J24 d'un cycle menstruel normal (2) (figure 1). Au cours de cette fenêtre, l'endomètre offre une réceptivité maximale pour l'implantation d'un embryon. L'étude de la fenêtre implantatoire est grevée de difficultés, la première étant que l'étude de modèles humains in vivo est difficile à réaliser et à accepter sur le plan éthique. Jusqu'à présent, il n'existe aucune définition moléculaire précise de la fenêtre implantatoire. Pour mettre en évidence des marqueurs potentiels de réceptivité, plusieurs outils sont disponibles (immunochimie, biologie moléculaire, immunodosages, etc.) et applicables sur différents modèles in vitro (cultures cellulaires, cultures organo-typiques, modèles de co-culture embryo-endométriale, etc.). Il faut cependant garder à l'esprit

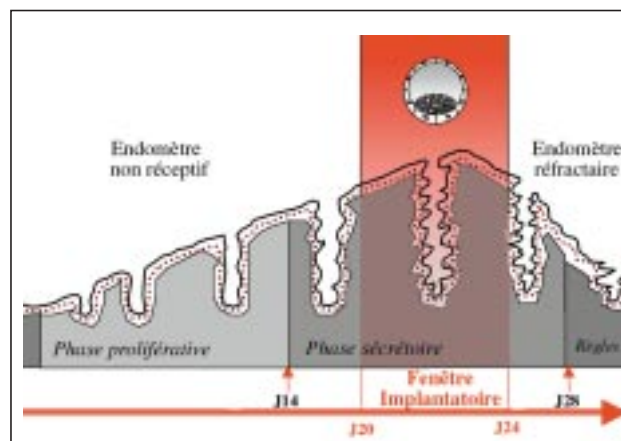


Figure 1. Représentation chronologique de la fenêtre implantatoire.

1. Université de Liège, centre d'immunologie, laboratoire de neuroimmunoenocrinologie et embryologie, CHU -B23, 4000 Liège, Belgique.

2. Université de Liège, département universitaire de gynécologie et d'obstétrique, CHR de la Citadelle, boulevard du 12^e de Ligne, 4000 Liège, Belgique.

qu'aucun modèle *in vitro* n'est apte à reproduire la complexité des interactions cellulaires dynamiques qui ont lieu au cours de la fenêtre implantatoire.

De nombreux marqueurs ont été proposés, participant au processus implantatoire de façon permissive ou inhibitrice (3). Cependant, pour avoir une valeur pronostique, un marqueur adéquat de la réceptivité utérine doit pouvoir témoigner de cette réceptivité cycle après cycle. De plus, en vue d'une application clinique, il faudrait pouvoir mettre en évidence ce marqueur de façon simple et non invasive, au cours du cycle où sera présent un embryon. À l'heure actuelle, il n'existe aucun marqueur de réceptivité utilisable de façon sûre, spécifique et reproductible. Plusieurs molécules voient leur expression nettement accrue au cours de la fenêtre implantatoire, suggérant qu'elles peuvent intervenir dans la réceptivité utérine mais aucune d'entre elles n'est à elle seule prédictive.

• **Les pinopodes** : protrusions apicales des cellules épithéliales de l'endomètre, ils interviendraient dans la phase d'apposition du blastocyste (4). Leur présence coïncide avec la fenêtre d'expression d'autres marqueurs présumés de la fenêtre implantatoire comme les intégrines et certaines cytokines (5). Il existe par ailleurs une corrélation entre le nombre de pinopodes et le taux d'implantation après transfert d'embryons. La nécessité de réaliser des biopsies dans la fenêtre implantatoire, de recourir à la microscopie électronique et leur extrême variabilité d'un cycle à l'autre limitent néanmoins la possibilité de leur utilisation en clinique courante.

• **Les intégrines** : elles constituent une famille de récepteurs transmembranaires. Trois de ces intégrines (a1b1, a4b4 et avb3) sont présentes conjointement lors de la fenêtre implantatoire (6). Une modification de ce profil d'expression des intégrines endométriales pourrait être associée à une réduction de la réceptivité endométriale et est retrouvée dans des endomètres de patientes présentant des déficits d'implantation (7). Ordi et al., dans leur étude prospective sur 100 patientes fertiles, ont cependant montré le manque de corrélation entre la présence ou l'absence d'expression d'avb3 endométriale sur une biopsie prélevée en mi-phase sécrétoire et le devenir obstétrical de la patiente. De plus, une comparaison de l'expression conjointe des pinopodes et de l'avb3 entre femmes fertiles et infertiles n'a pas permis de mettre en évidence de différence entre les deux groupes (8). On comprend, dès lors, toute la difficulté qu'ont les nombreux chercheurs qui travaillent sur la définition de la fenêtre implantatoire à trouver un marqueur spécifique et reproductible de la réceptivité utérine. Plus particulièrement, la difficulté ne réside pas seulement en la mise en évidence des marqueurs, mais consiste surtout à corréler leur présence au cours de la fenêtre implantatoire avec une action proréceptive.

• **Les mucines** : glycoprotéines de haut poids moléculaire, les mucines, et surtout MUC-1, sont particulièrement étudiées dans l'épithélium endométriale. Le rôle de MUC-1 dans l'implantation humaine a été étudié dans un modèle *in vitro* de coculture de blastocystes et de cellules épithéliales d'endomètre. Ce modèle a permis de montrer que la présence de l'embryon préappositionnel augmente l'expression à la surface de l'épithélium de MUC-1 qui est secondairement clivée

lorsque le blastocyste adhère à l'épithélium. Ces résultats suggèrent que MUC-1 est une molécule antiadhésive qui peut être localement clivée par l'embryon humain compétent en phase d'adhésion (9).

ÉTAT DES CONNAISSANCES SUR L'INTERFACE MATERNO-FŒTALE

L'implantation de l'embryon dans l'endomètre maternel est un phénomène biologique unique, exemple d'un paradoxe immunologique (tolérance d'une allogreffe) et d'un paradoxe biologique (apposition et adhésion de deux épithélia). Son succès nécessite un endomètre réceptif, un embryon fonctionnellement normal au stade blastocyste et, surtout, un dialogue synchronisé entre les deux protagonistes. Les stéroïdes sexuels sont les acteurs de première ligne, permettant la préparation de l'endomètre pour la nidation. Cependant, au niveau du microenvironnement qui s'établit à l'interface materno-fœtale, toute une série de facteurs de croissance ou de cytokines sont les médiateurs privilégiés du dialogue, de façon paracrine. Ce dialogue approprié entre l'embryon et l'endomètre maternel est partiellement contrôlé de façon paracrine par des cytokines. Les cytokines sont des médiateurs solubles représentant un langage universel de communication entre les différentes cellules de l'organisme. On constate une forte redondance des activités des cytokines, un même effet pouvant souvent être obtenu par des molécules différentes. Elles forment donc un réseau extrêmement complexe, reflétant leur interdépendance. Avec l'avancée des connaissances, le réseau n'en devient que plus complexe car de nouvelles cytokines sont découvertes régulièrement. Bien qu'il soit connu qu'à la fois l'endomètre et l'embryon préimplantatoire expriment certaines cytokines et leurs récepteurs correspondants au moment de l'implantation, et que ces facteurs interviennent dans le succès de l'implantation, les connaissances actuelles sur le rôle exact de chacun de ces facteurs sont limitées. Le rôle central de certaines cytokines est fortement suggéré par les études réalisées chez l'animal avec notamment les expériences d'inactivation génique chez la souris (souris *knock-out* ou KO). Cependant, rien ne permet de conclure que ces molécules, qui sont cruciales pour l'implantation animale, le sont également dans l'implantation humaine. Elles représentent néanmoins une multitude de facteurs pour lesquels un profil d'expression anormal (par excès ou par défaut) pourrait constituer autant d'éléments entravant la fertilité. Il nous est impossible de décrire toutes les cytokines pouvant jouer de près ou de loin un rôle dans le processus implantatoire (**tableau I**).

• **Le leukemia inhibitory factor (LIF)** : le LIF est une cytokine pléiotropique pro-inflammatoire. Stewart et al. ont démontré que la production utérine de LIF est indispensable pour l'implantation embryonnaire chez la souris. En effet, les souris femelles *Lif*^{-/-} homozygotes accouplées à des mâles fertiles *Lif*^{-/-} sont fécondes, mais l'implantation ne se produit pas. L'administration exogène de LIF à ces mêmes souris restaure une implantation correcte (10). Le LIF serait particulièrement important pour la transformation déciduale de l'endomètre étant donné que l'examen de l'utérus de ces souris ne montre

Tableau I. Liste non exhaustive des molécules d'intérêt dans l'implantation et le maintien de la grossesse. Modifié d'après Norwitz, N Eng J Med 2001.

Facteur	Exemple	Rôle présumé
Hormones	estradiol, progestérone hCG	Promouvoir la prolifération et la différenciation de l'endomètre. Soutien du corps jaune, action locale paracrine-autocrine
Modifications structurales de l'épithélium	Pinopodes, mucines	Faciliter l'adhésion de blastocyste, promouvoir la différenciation et l'invasion trophoblastique
Cytokines et facteurs de croissance	LIF, HB-EGF, VEGF, CSF, IL-6, IL-1, IL-4, TGF- β , IGF1 et 2, ...	Faciliter le dialogue entre blastocyste et utérus ; moduler la production de PG, promouvoir la prolifération/différenciation/remodelage de l'endomètre ; faciliter l'invasion trophoblastique, contrôle de la perméabilité vasculaire endométriale
Facteurs immunologiques	IL-10, Crry, HLA-G Indoléamine 2,3 dioxygénase	Immunosuppression Dégradation du tryptophane
Protéinases, inhibiteurs et molécules d'adhésion	MMP, TIMP, cadhérines, intégrines	Contrôle de l'invasion trophoblastique
Autres facteurs	COX-2, tension en oxygène	Régulation de la balance entre la prolifération et la différenciation trophoblastique

pas de trace de décidualisation et que les tentatives de décidualisation *in vitro* chez les souris *Lif*^{-/-} ont échoué. Les études réalisées chez la femme tendent à confirmer l'importance du LIF dans l'implantation humaine, bien que son rôle exact ne soit pas encore élucidé. La production endométriale de LIF varie au cours du cycle avec un maximum de sécrétion au cours de la fenêtre implantatoire. L'endomètre exprime également les transcrits du récepteur du LIF durant tout le cycle menstruel. Le LIF et son récepteur sont également exprimés par le blastocyste, ce qui suggère que le LIF pourrait être une molécule-pivot, parmi d'autres, dans le dialogue materno-fœtal. L'importance du LIF en physiologie de la reproduction est également évoquée en clinique. En effet, on peut observer, sur des cultures d'explants isolés à partir de biopsies endométriales, un déficit de production de LIF chez les femmes infertiles par échec d'implantation par rapport à une population de femmes fertiles (11). Une étude fondée sur la comparaison des taux de LIF obtenus entre les J18 et J21 dans le liquide de lavage de la cavité utérine (*flushing*) de patientes fertiles et de patientes présentant des échecs répétés en PMA a également montré des taux réduits chez les patientes infertiles (3,5 fois moins) par rapport aux patientes fertiles (12). Ledee-Bataille et al. ont récemment montré que des taux faibles de LIF dans des *flushings* réalisés à J26 sont prédictifs de l'implantation ; des taux élevés à ce stade pouvant refléter une inflammation locale, préexistante à l'implantation et qui lui serait défavo-

nable (13).

• **L'interleukine 6 (IL-6)** : l'IL-6 est une glycoprotéine sécrétée par une grande variété de cellules immunitaires et non immunitaires. Cependant, contrairement au LIF, les souris *Il-6*^{-/-} présentent une implantation embryonnaire normale (14). Chez la souris, l'IL-6 est donc utile mais non indispensable. Chez l'humain, l'IL-6 est exprimé au niveau de l'endomètre, de façon maximale en phase sécrétoire. Le trophoblaste produit également de l'IL-6 et cette production se fait principalement au niveau du syncytiotrophoblaste. Quant au récepteur à l'IL-6, on le retrouve au niveau de l'endomètre, du trophoblaste ainsi que de l'embryon. Ainsi, de nombreuses études concordent pour dire que l'IL-6 joue aussi un rôle dans la période péri-implantatoire.

• **L'interleukine 1 (IL-1)** : la famille de l'IL-1 comprend trois peptides : l'IL-1 α , l'IL-1 β et un antagoniste des récepteurs de type I appelé IL-1ra. Les IL-1 sont des cytokines pro-inflammatoires qui jouent probablement un rôle important dans le processus implantatoire et dans le dialogue materno-fœtal. En effet, l'administration d'IL-1ra à des souris bloque l'implantation embryonnaire en empêchant l'adhésion de l'embryon à l'épithélium. Cette inhibition de l'implantation est due à un effet direct de l'IL-1ra sur la transformation de la membrane plasmique des cellules épithéliales au moment de l'implantation, notamment par régulation négative de l'expression des sous-unités $\alpha 4$, αv et $\beta 3$ des intégrines (15). Signalons toutefois que cette expérience est très controversée. En effet, les souris invalidées pour l'IL-1 ont une grossesse normale. Il n'en reste pas moins que le système IL-1, par sa cinétique de production au niveau de l'endomètre humain, est un facteur potentiellement important dans l'implantation. IL-1 β est produit au niveau de l'endomètre principalement par les cellules stromales et la décidua, avec un maximum d'expression au cours de la phase lutéale (16). Les récepteurs de l'IL-1 sont exprimés au niveau de l'épithélium endométrial, avec un maximum au cours de la phase lutéale. Ils sont également exprimés au niveau du syncytiotrophoblaste où l'IL-1 stimule la production d'hCG. Ainsi, le profil d'expression de l'IL-1 au cours du cycle menstruel et l'existence de plus en plus évidente d'un dialogue entre le blastocyste et l'endomètre suggèrent que l'embryon, par le biais de l'IL-1, peut jouer un rôle dans l'expression des différentes protéines clés de l'endomètre réceptif.

• **Autres cytokines d'intérêt** : d'autres cytokines interviennent également dans le processus implantatoire comme l'IL-10, l'IL-11 (chez les souris *Il-11*^{-/-}, l'implantation ne se produit pas). Il est maintenant possible, grâce au *flushing* utérin, de doser, par ELISA, certaines cytokines sécrétées dans la cavité utérine. Récemment, Ledee-Bataille et al. ont montré que de meilleurs taux d'implantation sont observés chez les femmes ayant une IL-18 indétectable sur des *flushings* utérins réalisés le jour de la ponction (17).

CONTRÔLE EMBRYONNAIRE DE L'IMPLANTATION : RÔLE DE L'HORMONE CHORIONIQUE GONADOTROPE HUMAINE (HCG)

Il n'existe donc pas de marqueur spécifique de la réceptivité utérine, excepté l'implantation elle-même. Au cours de son

développement, le blastocyste préimplantatoire produit différents facteurs pour signaler sa présence à l'organisme maternel. Le meilleur marqueur indirect est l'hCG. L'hCG est une des molécules les plus précocement produites par l'embryon et la plus spécifique de sa présence. Dès le stade deux cellules, l'ARNm de l'hCG est transcrit et la production de cette hormone par l'embryon débute avant même l'implantation (18). Il ressort des études actuelles que l'hCG influence positivement l'implantation non seulement par son action lutéotrope, mais également via une action locale, probablement en interagissant avec son récepteur, le LH/hCG-R. Nous avons personnellement observé, dans un modèle in vitro de culture de cellules épithéliales d'endomètres issus de femmes jeunes et fertiles, que l'hCG (1 à 50 UI/ml) stimule la production de LIF et inhibe la sécrétion d'IL-6 après 72 heures. De plus, dans ce même modèle, l'hCG stimule la production d'un facteur pro-angiogène : le *vascular endothelium growth factor* (VEGF). Nos résultats constituent un argument supplémentaire sur le rôle crucial de l'embryon dans sa propre implantation (19).

PROFIL D'EXPRESSION GÉNÉTIQUE ENDOMÉTRIALE : LA TECHNIQUE DES MICROPUCES

Dans le passé, l'étude de l'expression génique était limitée par la difficulté d'étudier plusieurs gènes à la fois. Avec l'avènement de la technique des *microarrays* (ou micropuces), l'expression génique dans un tissu donné peut être étudiée à l'échelle génomique, ce qui permet de mesurer simultanément le niveau d'expression de plusieurs milliers de gènes. Un *microarray* est constitué d'une lame de verre sur laquelle des molécules d'ADN simple brin sont fixées en des points précis ("spots"). Il peut y avoir plusieurs milliers de spots (> 20 000) sur une lame, représentant chacun un gène. L'ARN, extrait de cellules étudiées et de cellules témoins, est soumis à la transcriptase inverse pour obtenir de l'ADN complémentaire (ADNc) qui est marqué avec deux fluorochromes différents (exemple : rouge pour les cellules étudiées, vert pour les cellules témoins). Les ADNc sont ensuite déposés sur les *microarrays*. Les séquences des gènes des extraits tissulaires s'hybrident à leur séquence complémentaire dans les spots. Les sondes permettent de mesurer la quantité d'ADNc fixée à un spot en fonction du niveau de fluorescence émis lorsque le spot est excité par un laser. La couleur du spot varie en fonction de la quantité relative d'ADNc des cellules étudiées (rouge) et témoins (vert). Si les ADNc des cellules étudiées et témoins se sont hybridés de façon équivalente, le spot est jaune. Ainsi, les taux relatifs d'expression des gènes dans les cellules étudiées et les cellules témoins peuvent être estimés sur la base de l'intensité de la fluorescence et sur la couleur de chaque spot (20) (figure 2).

Dans le domaine de la fertilité, la technique des *microarrays* a été récemment utilisée dans le but de mieux caractériser l'expression génique globale de l'endomètre sur des biopsies utérines au cours de la fenêtre implantatoire en comparaison avec l'endomètre en période non réceptive. Certaines équipes (21) ont pu mettre en évidence la surexpression, au cours de la fenêtre implantatoire, de toute une série de gènes comme la

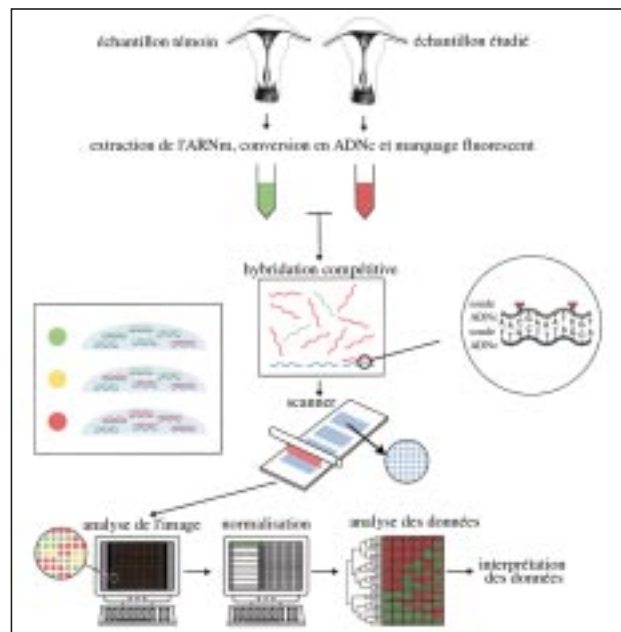


Figure 2. Représentation des différentes étapes de la technique des micropuces. Modifié d'après Bryant, *The Lancet*, 2004.

glycodéline, les *insulin-like growth factor-binding proteins* (IGF-BP), des cytokines et des facteurs de croissance, des protéines de surface cellulaire, des composants de la matrice extra-cellulaire, des protéines du cycle cellulaire, des gènes intervenant dans le transport du cholestérol, la biosynthèse des prostaglandines, des protéoglycans, etc. Cependant, ces études ont une approche très globale de la fenêtre implantatoire et ne permettent pas de tirer des conclusions probantes. De plus, il n'y a probablement pas un marqueur de la fenêtre implantatoire, mais une série de facteurs redondants, d'où la difficulté de mettre en évidence ces facteurs de façon précise par une technique aussi globale. Les perspectives résident en la réalisation de *microarrays* "sur mesure" permettant l'analyse d'un nombre plus restreint de gènes mais qui auront soigneusement été choisis en vertu de leur possible intervention dans le processus implantatoire. Ces techniques ont néanmoins un obstacle majeur qui est le coût considérable qu'elles engendrent.

L'IMMUNOLOGIE DE L'IMPLANTATION : LA NOTION DE TOLÉRANCE MATERNO-FŒTALE

Chez les animaux vivipares, deux individus génétiquement différents survivent en restant en étroite union structurale et fonctionnelle. En effet, l'embryon dont la moitié du matériel génétique est d'origine paternelle devrait être reconnu comme "non soi" par la mère et, selon les lois classiques de la transplantation, être rejeté en 14 jours lors d'une première grossesse et en 8 à 10 jours pour une grossesse ultérieure. Or, il n'en est rien et cette allogreffe est tolérée par la mère. Le phénomène de l'implantation est donc étroitement lié à la question importante de la tolérance du système immunitaire maternel vis-à-vis des antigènes paternels. Plusieurs mécanismes y contribuent, bien qu'ils ne soient pas tous élucidés. Ainsi, l'environnement hor-

monal de la grossesse et le rapport progestérone/œstrogène, en particulier, augmentent le seuil de réactivité du système immunitaire de la mère sans qu'il existe d'immunosuppression générale. Chez la femme, on estime que les fausses couches précoces, après implantation sont de l'ordre de 30 % et beaucoup d'entre elles ne sont pas diagnostiquées. De plus, près de 70 % de ces fausses couches sont d'étiologie inconnue. Les études sur les patientes présentant des avortements spontanés à répétition laissent penser qu'une grande partie de ces fausses couches est due à un dysfonctionnement immunologique perturbant le délicat équilibre entre la tolérance maternelle et la survie fœtale. Il faut cependant noter que ces études sont faites le plus souvent après l'avortement proprement dit, et il est difficile de déterminer si la fausse couche est engendrée par ce dysfonctionnement immunologique ou si elle en est la cause. La compréhension des mécanismes tolérogènes de l'implantation permettra une meilleure connaissance de ces entités pathologiques, mais également des retards de croissance intra-utérins et de la pré-éclampsie dont les fondements immunologiques sont de plus en plus évoqués. Revoyons brièvement ces mécanismes tolérogènes développés par la mère (et l'embryon) durant la grossesse.

• **Le profil des cytokines durant la grossesse :** en fonction du type de cytokines qu'ils produisent, les lymphocytes T CD4⁺ sont répartis en trois catégories de clones: les T_{H1}, les T_{H2} et les T_{H0} (lymphocytes non encore engagés sur la voie T_{H1} ou T_{H2}). Depuis les observations faites par Lin, Wegmann et leurs collègues, en 1993 (22), il est communément établi qu'un environnement prédominant en cytokines T_{H2} est favorable à la bonne évolution d'une grossesse, tandis qu'une polarisation T_{H1} est délétère. En effet, on peut observer, chez les patientes présentant des fausses couches à répétition, une prédominance de la réponse immunitaire de type T_{H1} (23) et une réduction de la production des cytokines T_{H2} (IL-4 et IL-10). Cependant, des études récentes réalisées chez la souris tempèrent cette classification en démontrant que les cellules NK utérines (uNK), indispensables au développement de la décidua, sont la source principale de production d'une cytokine T_{H1}, l'IFN- γ au site d'implantation. De plus, les souris *Ifn γ* femelles présentent des taux largement augmentés de fausses-couches du premier trimestre (24). Chez les souris présentant de sévères déficits en cytokines T_{H2} (souris *IL4^{-/-}* et *IL10^{-/-}*), on n'objective pas de déficits reproductifs.

• **La présentation antigénique par l'embryon :** la présentation antigénique du conceptus (embryon et placenta) est une des bases de la tolérance materno-fœtale. Du côté maternel, la décidua est parfaitement immuno-compétente, comme en témoignent les expériences in vivo et in vitro montrant que ces cellules sont parfaitement capables de présenter un antigène au système immunitaire maternel. La décidua est également infiltrée par des cellules ayant une activité lytique de type NK, capables de lyser une cible ne présentant pas les protéines du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH). Après le clivage de la membrane pellucide dans la cavité utérine, le trophoblaste embryonnaire est en contact direct avec les cellules immunocompétentes de la mère présentes dans l'endomètre, comme les cellules uNK, les cellules T et les macrophages. Le dilemme du placenta est que, s'il exprime des antigènes de classe I paternels, il devient sensible à un rejet par les cellules T cytotoxiques CD8⁺ (reconnaissance du **non-soi**). Si, en

revanche, il les réprime, il devient sensible à la lyse par les cellules NK (reconnaissance de l'**absence du soi**). Pour contourner ce problème, les cellules trophoblastiques n'expriment jamais les molécules hautement polymorphes du CMH de classe II ni celles de classe I classiques (excepté HLA-C exprimé au niveau du cytotrophoblaste extravilloux), qui seraient susceptibles d'être reconnues par les lymphocytes cytotoxiques maternels, mais bien les non classiques (CMH classe Ib) et peu polymorphes comme HLA-G et HLA-E (25). Les HLA-G1 membranaires et solubles sont retrouvés dans le syncytiotrophoblaste et dans le trophoblaste extravilloux. La forme soluble du HLA-G exerce trois fonctions principales : immunosuppression par l'intermédiaire de l'apoptose des cellules T CD8⁺ et l'inhibition de la prolifération des cellules T CD4⁺ ; régulation de la sécrétion cytokinique par les cellules uNK et inhibition de leur action lytique par interaction avec des récepteurs spécifiques (KIR) ; et finalement modulation de l'angiogenèse (26).

• **Les cellules uNK :** dans l'endomètre maternel, les lymphocytes représentent 15 % des cellules déciduales et la plupart d'entre eux exprime un phénotype NK fœtal (CD56⁺⁺⁺, CD94⁺⁺⁺, CD16⁻, CD3⁻, cytoplasme granuleux, production d'IFN- γ) (27). On observe une augmentation importante des cellules uNK durant la décidualisation. Ces variations suggèrent une régulation hormono-dépendante des uNK. Le rôle primordial des cellules uNK dans le développement de la décidua a été mis en évidence par les études chez l'animal. En effet, les souris uNK Tge26 (déficientes en cellules NK et T) et les souris *Rag2^{-/-}g γ ^{-/-}* (déficientes en cellules NK, T et B) ne produisent pas de cellules uNK. Leur grossesse est caractérisée par une hypocellularité de la décidua, la formation de placentas de petite taille et une impossibilité, pour les artères déciduales, de subir les modifications induites par la grossesse (28). De plus, ces déficits s'accompagnent d'un taux élevé (> 50 %) de mort fœtale en milieu de gestation. La reconstitution chez ces souris mutantes d'une population de cellules uNK à partir de la moëlle de souris SCID (déficientes en cellules B et T) corrige largement les déficits (29). Les cellules uNK sont directement responsables de la sécrétion d'un nombre important de cytokines (CSF-1, LIF, IL-1 et IL-10 ainsi que des facteurs angiogènes comme l'IFN γ et l'angiopoïétine-2) et régulent aussi la sécrétion de cytokines par d'autres cellules immunitaires. Ces cellules sont donc un acteur régulateur primordial dans le dialogue materno-fœtal.

L'IMPACT DE L'AUTO-IMMUNITÉ MATERNELLE

Par sa structure hémochoriale, le placenta ne permet pas le passage des cellules immunocompétentes maternelles et les maladies auto-immunes maternelles (diabète de type 1) n'engendrent pas directement de pathologie fœtale (excepté les conséquences métaboliques liées au non-équilibre de la pathologie maternelle comme dans le diabète de type 1). La présence d'auto-anticorps dans la circulation maternelle est, en revanche, grande pourvoyeuse de fausses couches et de pathologies fœtales (lupus érythémateux disséminé, thyroïdite auto-immune, thrombocytopenie auto-immune, etc.).

CONCLUSION

Le processus implantatoire, dont on sait qu'il constitue l'étape la plus cruciale pour l'obtention d'une grossesse, est une des énigmes les plus importantes de la médecine de la reproduction. Le but principal de la recherche actuelle est de comprendre ce processus complexe, au niveau moléculaire, afin d'améliorer le diagnostic et le traitement de l'infertilité mais aussi des fausses couches à répétition et de la pré-éclampsie. Bien qu'une partie du voile ait été levée sur la cascade des événements qui ont lieu au moment de l'implantation, il ne faut pas sous-estimer l'étendue de notre méconnaissance : l'absence de contrôle de l'implantation reste un obstacle majeur au succès de la grossesse. Ces déficits d'implantation peuvent résulter de qualités ovocytaires et embryonnaires médiocres, d'une mauvaise réceptivité utérine ou d'un dysfonctionnement hormonal, immunologique ou angiogénique du dialogue materno-fœtal. Nous devons garder à l'esprit que des mécanismes très différents et souvent intriqués peuvent être à l'origine de l'échec d'implantation. Les avancées majeures réalisées grâce à la recherche fondamentale rendent chaque jour le processus plus complexe mais permettent d'entrevoir les chemins diagnostiques et thérapeutiques du futur. L'avenir n'est pas dans la détermination d'une thérapeutique unique de l'infertilité inexplicite mais bien dans l'exploration ciblée de chaque patiente et dans la personnalisation des soins. ■

R É F É R E N C E S B I B L I O G R A P H I Q U E S

- Nygren KG, Andersen AN. Assisted reproductive technology in Europe, 1999. Results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod* 2002 ; 17 (12) : 3260-74.
- Lessey BA. The use of biomarkers for assessment of uterine receptivity. In : *Textbook of Assisted Reproductive Techniques 2000* : 352-6.
- Acosta AA, Elberger L, Borghi M et al. Endometrial dating and determination of the window of implantation in healthy fertile women. *Fertil Steril* 2000 ; 73 (4) : 788-98.
- Psychoyos A. Uterine receptivity for nidation. *Ann N Y Acad Sci* 1986 ; 476 : 36-42.
- Damario MA, Lesnick TG, Lessey BA et al. Endometrial markers of uterine receptivity utilizing the donor oocyte model. *Hum Reprod* 2001 ; 16 (9) : 1893-9.
- Reddy KV, Mangale SS. Integrin receptors: the dynamic modulators of endometrial function. *Tissue Cell* 2003 ; 35 (4) : 260-73.
- Lessey BA, Castelbaum AJ, Sawin SW, Sun J. Integrins as markers of uterine receptivity in women with primary unexplained infertility. *Fertil Steril* 1995 ; 63 (3) : 535-42.
- Ordi J, Creus M, Ferrer B et al. Midluteal endometrial biopsy and alphav-beta3 integrin expression in the evaluation of the endometrium in infertility : implications for fecundity. *Int J Gynecol Pathol* 2002 ; 21 (3) : 231-8.
- de Pablo JLMM, Simon C. Embryonic regulation in the process of implantation, in *Textbook of Assisted Reproductive Techniques* ; 2000 : 341-52.
- Stewart CL, Kaspar P, Brunet LJ et al. Blastocyst implantation depends on maternal expression of leukaemia inhibitory factor. *Nature* 1992 ; 359 (6390) : 76-9.
- Laird SM, Tuckerman EM, Dalton CF et al. The production of leukaemia inhibitory factor by human endometrium: presence in uterine flushings and production by cells in culture. *Hum Reprod* 1997 ; 12 (3) : 569-74.
- Hambartsoumian E. Endometrial leukemia inhibitory factor (LIF) as a possible cause of unexplained infertility and multiple failures of implantation. *Am J Reprod Immunol* 1998 ; 39 (2) : 137-43.
- Ledez-Bataille N, Lapree-Delage G, Taupin JL et al. Concentration of leukaemia inhibitory factor (LIF) in uterine flushing fluid is highly predictive of embryo implantation. *Hum Reprod* 2002 ; 17 (1) : 213-8.
- Kopf M, Baumann H, Freer G et al. Impaired immune and acute-phase responses in interleukin-6-deficient mice. *Nature* 1994 ; 368 (6469) : 339-42.
- Simon C, Valbuena D, Krussel J et al. Interleukin-1 receptor antagonist prevents embryonic implantation by a direct effect on the endometrial epithelium. *Fertil Steril* 1998 ; 70 (5) : 896-906.
- Simon C, Pellicer A, Polan ML. Interleukin-1 system crosstalk between embryo and endometrium in implantation. *Hum Reprod* 1995 ; 10 Suppl 2 : 43-54.
- Ledez-Bataille N, Dubanchet S, Coulomb-L'hermine A et al. A new role for natural killer cells, interleukin (IL)-12, and IL-18 in repeated implantation failure after in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2004 ; 81 (1) : 59-65.
- Juriscova A, Antenos M, Kapasi K et al. Variability in the expression of trophoblastic markers beta-human chorionic gonadotrophin, human leukocyte antigen-G and pregnancy specific beta-1 glycoprotein by the human blastocyst. *Hum Reprod* 1999 ; 14 (7) : 1852-8.
- Perrier d'Hauterive S, Charlet-Renard C, Berndt S et al. Human chorionic gonadotropin and growth factors control leukemia inhibitory factor (LIF) and Interleukin 6 (IL-6) Secretion by Human Endometrial Epithelium in vitro. *submit*, 2004.
- Brazma A, Robinson A, Cameron G, Ashburner M. One-stop shop for microarray data. *Nature* 2000 ; 403 (6771) : 699-700.
- Kao LC, Germeyer A, Tulac S et al. Expression profiling of endometrium from women with endometriosis reveals candidate genes for disease-based implantation failure and infertility. *Endocrinol* 2003 ; 144 (7) : 2870-81.
- Lin H, Mosmann TR, Guilbert L et al. Synthesis of T helper 2-type cytokines at the maternal-fetal interface. *J Immunol* 1993 ; 151 (9) : 4562-73.
- Makhseed M, Raghupathy R, Azizieh F et al. Th1 and Th2 cytokine profiles in recurrent aborters with successful pregnancy and with subsequent abortions. *Hum Reprod* 2001 ; 16 (10) : 2219-26.
- Ashkar AA, Croy BA. Interferon-gamma contributes to the normalcy of murine pregnancy. *Biol Reprod* 1999 ; 61 (2) : 493-502.
- Loke YW, King A. Immunological aspects of human implantation. *J Reprod Fertil Suppl* 2000 ; 55 : 83-90.
- Le Bouteiller P, Blaschitz A. The functionality of HLA-G is emerging. *Immunol Rev* 1999 ; 167 : 233-44.
- King A, Burrows T, Loke YW. Human uterine natural killer cells. *Nat Immun* 1996 ; 15 (1) : 41-52.
- Guimond MJ, Luross JA, Wang B et al. Absence of natural killer cells during murine pregnancy is associated with reproductive compromise in Tg26 mice. *Biol Reprod* 1997 ; 56 (1) : 169-79.
- Guimond MJ, Wang B, Croy BA. Engraftment of bone marrow from severe combined immunodeficient (SCID) mice reverses the reproductive deficits in natural killer cell-deficient Tg epsilon 26 mice. *J Exp Med* 1998 ; 187 (2) : 217-23.