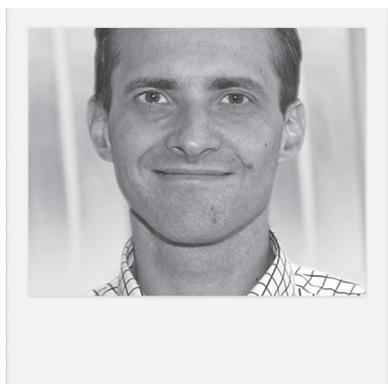


# Importance des nouvelles technologies de génétique dans la médecine d'aujourd'hui et de demain

**RÉSUMÉ :** Plusieurs nouvelles technologies de génétique sont apparues ces dernières années. Initialement utilisées par les chercheurs, celles-ci sont progressivement transposées à l'analyse de routine pour la clinique. Deux de ces nouvelles technologies sont discutées dans cet article du fait de la modification du monde médical qu'elles vont entraîner.

La première, déjà en application en semi-routine pour le patient, correspond aux puces à ADN. Cette technologie permet soit de rechercher des anomalies chromosomiques de très petite taille (avec un niveau de résolution jusqu'à 100 fois meilleur que le caryotype classique), soit de rechercher des facteurs de susceptibilités pour des maladies fréquentes.

La deuxième, encore au stade de la recherche, correspond au séquençage très haut débit, dit de nouvelle génération. Elle permettra, en moins d'une semaine, de séquencer l'ensemble des gènes du patient. Cette technologie très prometteuse, tant sur le plan diagnostique que thérapeutique, se heurte à l'interprétation de la somme faramineuse de données informatiques.



→ **D. GENEVIÈVE**

Département de Génétique clinique,  
Centre de référence des anomalies  
du développement,  
CHRU de Montpellier,  
Faculté de Médecine  
Montpellier-Nîmes,  
MONTPELLIER.

Ces dernières années ont été marquées par l'émergence de nouvelles techniques de génétique moléculaire. Ces nouvelles techniques sont en train de révolutionner la recherche et, petit à petit, la pratique de la génétique médicale. La révolution technique est liée au fait que ces nouvelles technologies permettent de réaliser des dizaines de milliers d'analyses génétiques en une seule manipulation. Cependant, la très grande quantité d'informations obtenues rend obligatoire l'analyse informatique par des bio-informaticiens.

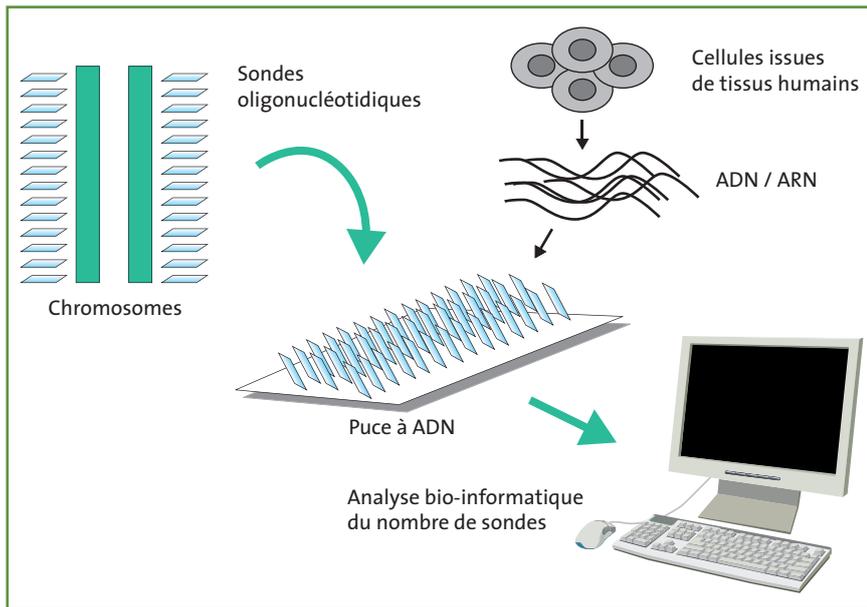
Ces nouvelles technologies permettent un meilleur rendement diagnostique, l'établissement d'un pronostic plus sûr et permettront très probablement une meilleure prise en charge des patients.

Le grand défi du XXI<sup>e</sup> siècle pour la médecine va être d'organiser l'adaptation de ces nouvelles technologies vers l'hôpital et les patients dans de bonnes conditions, en particulier en donnant les moyens nécessaires à la formation et au recrutement de bio-informaticiens qui devront gérer la très grande masse de données informatiques générées par ces nouvelles technologies.

**Parmi ces technologies, deux se révèlent d'un intérêt particulier : la technologie dites des puces à ADN et le séquençage nouvelle génération (*next generation sequencing* – NGS).**

## 1. Les puces à ADN

La technique des puces à ADN consiste en l'étude du génome entier grâce à l'uti-



**FIG. 1 :** Représentation schématique du mécanisme de fonctionnement des puces à ADN pour recherche de microremaniements (à oligonucléotides). Des millions de sondes nucléotidiques (fragments d'ADN), réparties équitablement sur l'intégralité de l'ADN et donc des chromosomes humains, sont disposées sur une surface de verre, de silicium ou de plastique : c'est la puce à ADN (ou ARN). L'ADN (ou l'ARN) issu de tissu humain est fragmenté, marqué puis hybridé (collé) sur les sondes de la puce à ADN. En fonction de la quantité de matériel, on observera des trisomies (gain) ou monosomies (perte) de matériel génétique de petite taille.

lisation de sondes spécifiques correspondant à des parties précises de l'ADN humain (**fig. 1**). Ces sondes sont réparties de façon homogène tout le long de l'ADN humain. Cette technique ne permet pas l'étude de tout l'ADN mais uniquement de fragments fixes déjà prédéterminés.

Il existe deux applications directes de cette technique : la recherche de microremaniements chromosomique et l'étude d'association à la recherche d'éléments de susceptibilité génétique à des pathologies fréquentes.

#### ● **La recherche de microremaniements chromosomiques**

La première application sert à rechercher une variation dans la quantité d'ADN d'un patient (recherche de monosomie ou de trisomie de très petite taille, **fig. 1**). Le terme consacré est celui de la CGH-array (*comparative genomic hybridization*). Le résultat est

comparable à un "super caryotype". En effet, la résolution maximale d'un caryotype classique (qui est dépendante du médecin cytogénéticien) est de l'ordre de 5 mégabases (5 millions de paires de bases et, lors des techniques de routine, le plus souvent cette résolution est de l'ordre de 10 mégabases). La technique de CGH-array permet une définition jusqu'à 50 000 paires de bases (voire plus élevée), soit une définition jusqu'à 100 fois meilleure que le caryotype dit classique. Cette nouvelle méthode permet donc d'identifier plus d'anomalies chromosomiques qu'avec le caryotype standard.

Cette technologie est utilisée dans deux grandes indications :

>>> **Recherche de microremaniements dans les cancers.** Le but est pronostic et thérapeutique. En fonction du profil chromosomique de la tumeur (soit en ARN = profil d'expression, soit en ADN

= profil génétique), il est parfois possible de déterminer si cette tumeur sera agressive ou non et quel arsenal thérapeutique devra être utilisé.

>>> **Identification de microremaniements en cytogénétique constitutionnelle.** Il est classiquement convenu que le caryotype permet d'identifier l'étiologie d'un retard psychomoteur syndromique chez un patient (c'est-à-dire associé à d'autres symptômes tels que des malformations, une épilepsie, des variations morphologiques mineures du visage, etc.) dans 5 % des cas (en incluant la trisomie 21) alors que les puces à ADN permettent d'identifier une cause jusqu'à 20 à 25 % des patients (Miller *et al.*, 2010). Ce rendement diagnostique est bien évidemment fonction de l'indication et de l'expertise du clinicien qui va en faire la demande (rendement allant de 5 % à 35 %).

#### **Ce qui va changer :**

>>> **En cancérologie :** la démocratisation de cette technique permettra un diagnostic et un pronostic de la tumeur "à la carte" avec l'établissement d'un protocole thérapeutique ciblé spécifique au patient (Taylor *et al.*, 2010).

>>> **En génétique clinique :** progressivement, le caryotype classique, dans certaines indications, sera remplacé par les puces à ADN (Hochstenbach *et al.*, 2009). Un réseau national de plateformes labellisées par la DHOS pour la recherche de microremaniements chromosomiques de très petite taille a été mis en place afin de proposer cet examen à la population. Bien évidemment, le coût de cet examen reste important, les indications devront être mesurées. <http://www.renapa.univ-montp1.fr>.

On peut également imaginer que cet examen pourra, dans un futur proche, remplacer le caryotype en anténatal (Wapner *et al.*, 2012). Il est cependant important de noter que

## REVUES GÉNÉRALES

### Génétique

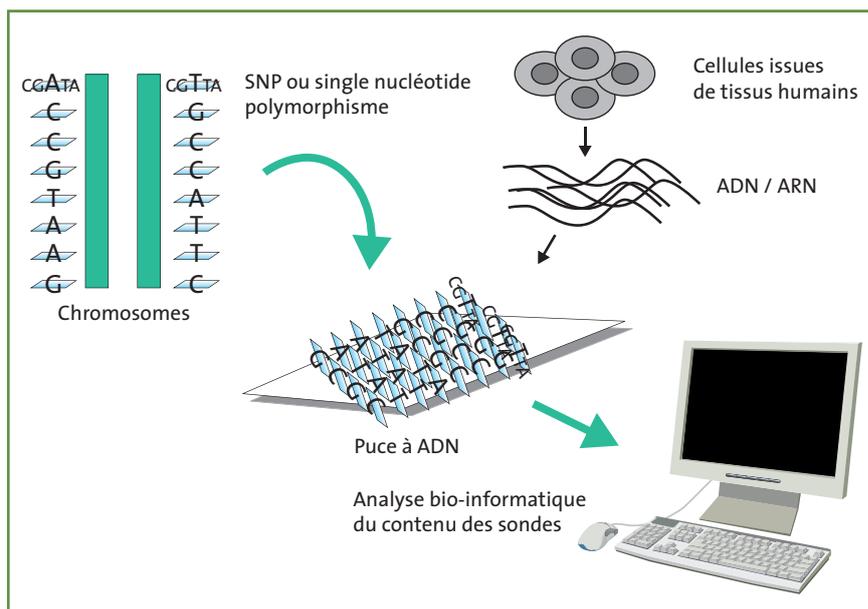
l'interprétation des résultats issus de cette analyse est difficile car, habituellement, on observe 10 à 30 variations par individu. L'attribution de la causalité d'une de ces variations est difficile et nécessite souvent des vérifications sur les prélèvements des deux parents.

#### ● Les études d'association de l'ensemble du génome

>>> L'autre utilisation des puces à ADN consiste à étudier l'ensemble du génome (étude pangénomique), non pas dans sa variation en quantité d'ADN mais dans sa variation en information. Ici, le variant du génome étudié correspond à des bases nucléotidiques localisées à des endroits très précis appelé les *single-nucleotide polymorphisms* (SNP) (fig. 2). Un SNP correspond à un changement d'un seul nucléotide (par exemple le changement d'une adénine pour une thymine). Habituellement, aucune répercussion pathologique n'est attribuée à ce changement qui est ainsi considéré comme un polymorphisme. Or, depuis longtemps, certains polymorphismes peuvent avoir une répercussion fonctionnelle, non pathologique, comme pour les enzymes par exemples qui peuvent fonctionner à 80 % au lieu de 100 % en fonction de tel ou tel polymorphisme dans leur séquence d'ADN.

>>> L'utilisation principale de ces puces à ADN avec étude des SNP consiste en l'étude d'association entre les SNP (plus de 900 000 SNP répartis plus ou moins équitablement tout le long du génome) et un phénotype normal (âge de la puberté et de la ménopause par exemple) ou anormal fréquent (obésité, cancers, infarctus du myocarde, asthme, maladies inflammatoires digestives, etc.) dans de grandes cohortes de patients. Le but est d'étudier si un variant considéré comme un polymorphisme (le fameux SNP) peut être associé à un risque accru pour une maladie.

De très nombreuses publications ont été faites en utilisant cette étude



**FIG. 2 :** Représentation schématique du mécanisme de fonctionnement des puces à ADN pour analyse de liaison (à SNP). Les sondes nucléotidiques collées sur la lame contiennent une information qualitative : le polymorphisme ou SNP. Le principe consiste à comparer les informations contenues par les SNP et d'associer ces informations (après une étude informatique) à une pathologie ou un signe clinique.

d'association génome entier (*genome-wide association studies* [GWAS]). Les conséquences immédiates sont assez tenues car, au final, même si l'association statistique est le plus souvent très forte, le risque relatif d'avoir une maladie associée à ce variant par rapport à un autre reste faible. Par exemple, plusieurs auteurs ont pu mettre en évidence un lien statistique significatif entre certains polymorphismes et un risque d'obésité plus élevé chez ceux qui avaient ces polymorphismes contre ceux qui ne l'avaient pas (Willer *et al*, 2009).

Cependant, l'identification de facteurs de susceptibilités permet parfois de mieux comprendre les mécanismes de la maladie. Par exemple, les études d'associations génome entier dans les cancers ont permis d'identifier dans nombre de cancers différents une variation commune sur le chromosome 8. Cette variation se situe proche du gène *MYCN*, un gène connu pour son pouvoir cancérogène. Cette variation dérégule le

gène *MYCN* et prédispose aux cancers (Harismendy et Frazer, 2009).

#### Ce qui va changer :

>>> Alors que l'application immédiate de cette technologie dans la prévention des maladies fréquentes pour la population générale n'est pas encore d'actualité, la possibilité de déterminer les facteurs de prédispositions aux maladies fréquentes n'a pas échappé aux industriels. Actuellement, des **tests génétiques** à la recherche de facteurs de prédisposition tous azimuts sont **proposés sur Internet**. Le consommateur a la possibilité – sans avis ou prescription médicale – de faire réaliser son test pour savoir s'il est à risque de tel ou tel cancer, de maladies cardiovasculaires, d'obésité, de démence sénile. Le consommateur ne sait pas qu'en fonction de tel ou tel variant identifié, le risque relatif n'est que très faible. De même, il pourra être faussement rassuré alors qu'il présente des facteurs environnementaux très aggravants. *In fine*, c'est la

santé du patient qui va être mise en jeu du fait de l'absence d'un encadrement médical adapté.

>>> Enfin, il n'est pas impossible que **les patients consultent avec/pour leurs résultats de génétique moléculaire obtenu sur Internet**. À charge au clinicien d'expliquer des résultats pour lesquels il n'aura pas été préparé lors de ses études.

## 2. Le séquençage très haut débit

L'apparition sur le marché de séquenceurs dits de nouvelle génération a entraîné une révolution dans le monde de la génétique. Le séquençage à très haut débit ou massif a déjà permis d'identifier plusieurs gènes soit par une approche novatrice (séquençage de tous les exons de tous les gènes sur tous les chromosomes, **fig. 3**), soit avec une approche classique de cartographie de gènes afin

de gagner du temps (séquençage d'un chromosome entier ou d'un fragment de chromosome).

### ● Séquençage de tous les exons (exome sequencing)

Cette technique très récente permet de séquencer en une seule fois une très grande quantité de matériel génétique. Par exemple, il est possible d'étudier en une seule expérience toutes les régions codantes et régulatrices de l'ensemble des gènes d'un individu, ce qui était irréalisable jusqu'à présent en dehors de très grands groupes industriels ou de recherche, et ce dans un laps de temps bien plus conséquent.

Le principe consiste en un séquençage de tous les gènes dans leurs globalités (exons, introns et séquences codantes) chez 3 ou 4 individus avec la même maladie. Toutes les anomalies sont

ensuite étudiées bio-informatiquement. L'identification d'anomalies présentes chez tous les patients et non retrouvées chez les individus sains (base de données informatique internationale) permet de déterminer un ou plusieurs gènes candidats. Ce ou ces gènes sont ensuite étudiés chez d'autres patients avec la même maladie pour confirmation de leur causalité.

Cette technique a permis d'identifier de nombreux gènes de maladie génétique rare, avec très peu de patients atteints à travers le monde, alors que les autres stratégies d'identification de gènes n'en étaient pas capables (Ng *et al.* 2010).

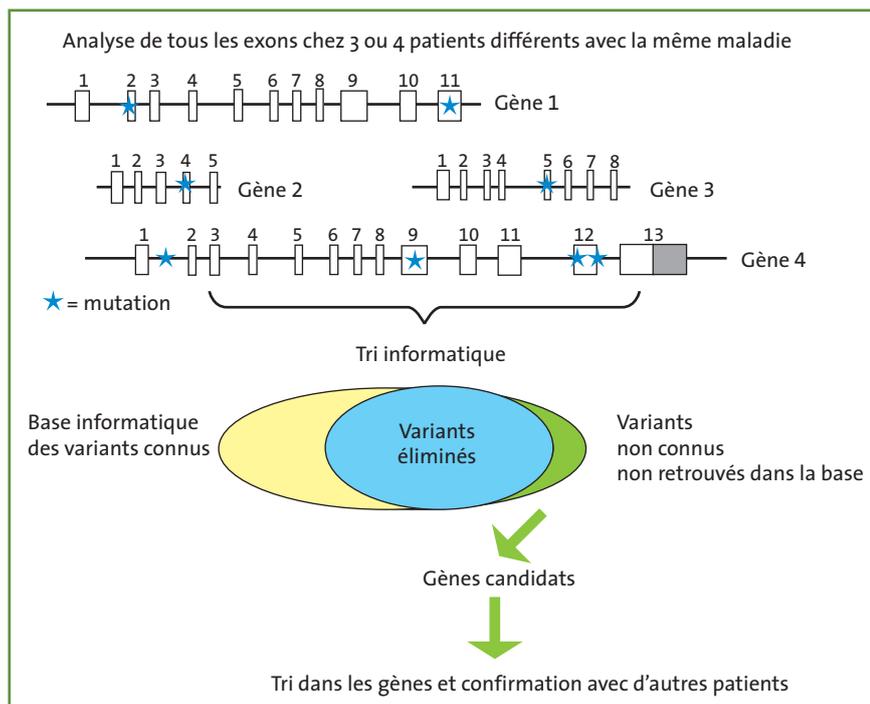
### ● Séquençage massif d'une région ou d'un chromosome : séquençage ciblé

La technique de séquençage à très haut débit ou massif peut être utilisée pour étudier un fragment ou un chromosome entier. Par exemple, en cas de maladies génétiques liées au chromosome X, il n'est pas nécessaire d'étudier les autres gènes situés sur les autres chromosomes (Shoubridge *et al.* 2010).

### Ce qui va changer :

>>> Il sera bientôt possible de réaliser le séquençage de l'ensemble des gènes (voire du génome) d'un individu dans la semaine.

>>> Cependant, aucune structure hospitalière (et de recherche) en France n'est capable de traiter les données informatiques massives délivrées par cette technique. La création d'une nouvelle filière de paramédicaux – les bio-informaticiens – est urgente afin de faire face à l'arrivée imminente de ces technologies dans le monde médical.



**FIG. 3 :** Principe du séquençage massif type "exome sequencing". L'échantillon d'ADN est séquencé dans sa quasi globalité. Les milliers d'anomalies observées sont comparées aux données de la littérature par bio-informatique. Les anomalies non retrouvées dans la population générale et communes aux patients (c'est-à-dire dans le même gène) sont sélectionnées. Le gène candidats est alors "éprouvé" par l'étude d'autres patients avec la même maladie.

## Conclusion

Ces deux nouvelles technologies permettront une avancée sans précédent pour le diagnostic et le pronostic des maladies.

## REVUES GÉNÉRALES

### Génétique

On imagine plusieurs cas de figure :

#### >>> À visée diagnostique en postnatal.

Dans le cadre des maladies rare, il n'est pas inhabituel de passer plusieurs années sans identifier le diagnostic du patient. L'utilisation conjointe des puces à ADN avec le NGS permettrait de faire un diagnostic rapide dans certaines conditions.

#### >>> À visée diagnostique en prénatal.

Ces techniques permettront d'identifier davantage de maladies génétiques responsables de handicaps lourds que les techniques actuelles de prénatal. Cependant, la mise en œuvre de ces nouvelles méthodes permettra également d'identifier de nombreuses maladies génétiques non éligibles pour une interruption médicale au regard de la loi française. Il sera alors nécessaire d'avoir une grande prudence quant à l'indication des interruptions médicales de grossesse. Il sera également nécessaire de définir au préalable, à

l'examen et en accord avec le patient, quelles seront les informations qui devront être données. Comment, par exemple, devons-nous gérer l'identification de mutations dans des gènes prédisposant aux cancers alors qu'ils ne sont pas connus de la famille ?

>>> À visée diagnostique et pronostique en cancérologie. L'identification de variants spécifiques permettra d'avoir un profil d'agressivité et de réponse thérapeutique de la tumeur cancéreuse. Un traitement spécifique "à la carte" pourra alors être proposé au patient avec l'espoir d'un bien meilleur pronostic et de moindres effets secondaires.

#### Bibliographie

1. HARISMENDY O, FRAZER KA. Elucidating the role of 8q24 in colorectal cancer. *Nat Genet*, 2009;41:868-869.
2. HOCHSTENBACH R, VAN BINSBERGEN E, ENGELEN J *et al*. Array analysis and karyotyping: workflow consequences based on a retrospective study of 36,325 patients with idiopathic developmental delay in the Netherlands. *Eur J Med Genet*, 2009;52:161-169.
3. MILLER DT, ADAM MP, ARADHYA S *et al*. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *Am J Hum Genet*, 2010;86:749-764.
4. NG SB, BUCKINGHAM KJ, LEE C *et al*. Exome sequencing identifies the cause of a mendelian disorder. *Nat Genet*, 2010;42:30-35.
5. SHOUBRIDGE C, TARPEY PS, ABIDI F *et al*. Mutations in the guanine nucleotide exchange factor gene IQSEC2 cause nonsyndromic intellectual disability. *Nat Genet*, 2010;42:486-488.
6. TAYLOR BS, SCHULTZ N, HIERONYMUS H *et al*. Integrative genomic profiling of human prostate cancer. *Cancer Cell*, 2010;18:11-22.
7. WAPNER RJ, MARTIN CL, LEVY B *et al*. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis. *N Engl J Med*, 2012;367:2175-2184.
8. WILLER CJ, SPELIOTES EK, LOOS RJ *et al*. Genetic Investigation of Anthropometric Traits Consortium. Six new loci associated with body mass index highlight a neuronal influence on body weight regulation. *Nat Genet*, 2009;41:25-34.

L'auteur a déclaré ne pas avoir de conflits d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.