

I Revues générales

Outils du diagnostic génétique : qu'avons-nous à notre disposition ?

RÉSUMÉ : La discipline de génétique médicale a été révolutionnée par l'émergence, à partir de 2008, des techniques de séquençage à haut débit. Ces techniques permettent de séquencer soit des panels de plusieurs centaines de gènes, soit la totalité des séquences codantes des 20 000 gènes du génome humain (séquençage d'exome), soit même la totalité du génome. On a ainsi découvert l'extrême diversité interindividuelle du génome humain à l'origine de la complexité de la démarche visant à identifier, parmi les milliers de variants du génome, celui ou ceux qui sont à l'origine d'une maladie génétique.

Les outils du diagnostic génétique ont deux champs d'application majeurs : les maladies dites rares dont ils permettent le diagnostic, la prévention (diagnostic prénatal) et parfois le traitement ("essais thérapeutiques"), et les cancers dont ils fixent le pronostic, assurent le théranostic (orientation du choix thérapeutique) et le suivi.



**J. STEFFANN, G. BARCIA,
S. RONDEAU, S. BACROT,
A. HAMZA, J.-P. BONNEFONT**
Fédération de génétique médicale,
Service de génétique moléculaire,
Hôpital universitaire Necker-Enfants
malades, PARIS.

Histoire de la génétique médicale

Que de chemin parcouru depuis le milieu du xx^e siècle ! Sans entrer dans les détails de la formidable épopée du diagnostic moléculaire des maladies génétiques constitutionnelles (maladies dites "rares") et somatiques (cancers...) [1], quelques dates phares sont à mettre en exergue (**fig. 1**). Au moment où les débats sur les tests génétiques ont envahi les médias, on a du mal à concevoir que la structure de l'acide désoxyribonucléique (ADN), molécule hélicoïdale double brin, a été élucidée il y a moins de 70 ans (1953) [2].

Peu de temps après, la mise en œuvre d'une technique innovante, le caryotype, a permis à une équipe française de mettre en évidence pour la première fois une anomalie génétique à l'origine d'une maladie jusqu'alors connue sous le nom de "mongolisme", à savoir l'existence d'un chromosome 21

surnuméraire (trisomie 21) [3]. S'en est suivie la description d'autres aneuploïdies (trisomies 13, 18...) mais également, au niveau infra-chromosomique, de réarrangements – délétions, insertions, inversions, translocations... – structurant ainsi la discipline de cytogénétique, volontiers désignée aujourd'hui sous le vocable de "génétique chromosomique".

Il est vite apparu que le niveau de résolution du caryotype (quelques mégabases ou millions de paires de bases) était insuffisant pour donner accès à la plupart des anomalies génétiques. Cette limitation a été surmontée grâce à l'avènement quasi simultané (1975) de 2 techniques, le *Southern blot* et le séquençage d'ADN.

Le *Southern blot* (**fig. 2**) a permis de visualiser des réarrangements de taille bien inférieure (quelques centaines de paires de bases) à celle des réarrangements détectés par caryotype, voire des micro-réarrangements (quelques paires

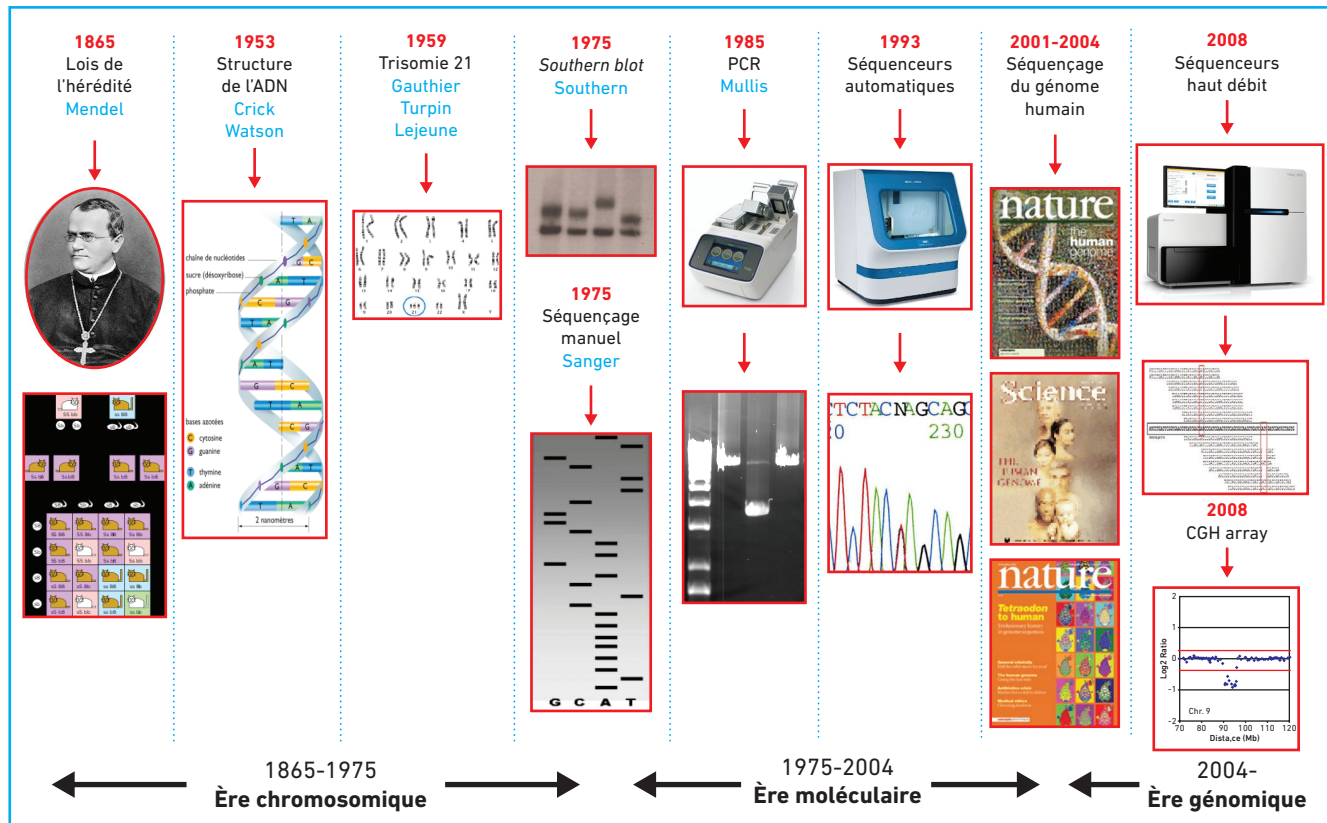


Fig. 1 : Quelques dates clés de l'histoire de la génétique médicale. CGH array : hybridation génomique comparative sur puce à ADN.

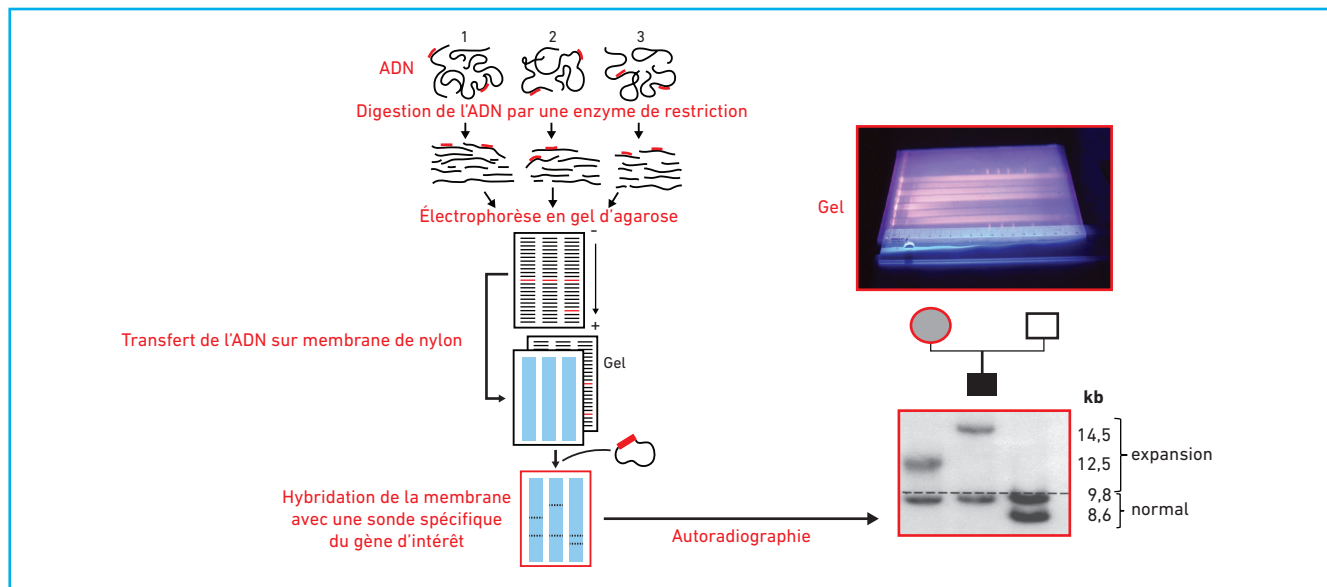


Fig. 2 : Représentation schématique de la procédure de Southern blot. Le Southern blot demeure la méthode de référence pour le diagnostic des maladies à grandes expansions de triplets instables telles que le syndrome de fragilité du chromosome X ou la maladie de Steinert. L'autoradiogramme montre l'expansion de triplets CTG du gène *DMPK* chez une femme et son fils atteints de myotonie de Steinert. Chacun des individus testés possède 2 allèles de taille différente (1 allèle maternel et 1 allèle paternel), reflets du polymorphisme (variabilité) du nombre de triplets CTG dans la population générale. La différence de taille des allèles mutés entre la mère et son fils est le reflet de l'instabilité trans-générationnelle du nombre des triplets CTG du gène *DMPK*.

Revue générale

de bases) sous réserve de disposer d'une sonde (fragment d'ADN marqué) de la région d'intérêt. À un niveau de résolution encore supérieur, le séquençage d'ADN (**fig. 3**) a permis enfin d'identifier la nature de chacune des bases nucléiques dont la succession constitue, en association avec une molécule de sucre (désoxyribose), la molécule d'ADN. Ces techniques ont rendu possible la réalisation des premiers diagnostics moléculaires de maladies génétiques constitutionnelles en période postnatale mais aussi prénatale (diagnostic prénatal ou DPN).

Un obstacle à la mise en œuvre de ces techniques était la difficulté à obtenir la

quantité d'ADN nécessaire à leur réalisation. Ce problème a été résolu grâce à la technique dite de "réaction de polymérisation en chaîne" ou PCR (1985) permettant, à partir de quelques molécules d'ADN, d'obtenir des millions de copies de la région d'ADN d'intérêt en quelques heures. Cette révolution technique a constitué le déclencheur d'un "âge d'or" (1986-2000) de la génétique moléculaire, marqué par de multiples identifications de gènes des principales maladies génétiques monogéniques (myopathie de Duchenne, mucoviscidose, amyotrophie spinale infantile, syndrome de fragilité de l'X...), fondées sur des approches dites de "liaison génétique" ou "clonage positionnel" [4].

Ces approches très lourdes, relativement artisanales et très chronophages étaient les seules utilisables lorsqu'on ignorait la nature du produit (protéine) du gène en cause, dans la mesure où la séquence du génome humain demeurait très partiellement connue. Les données produites par ces études ont rapidement pu être appliquées au diagnostic postnatal et prénatal de très nombreuses maladies génétiques, rendu plus aisé par l'évolution de la technique de séquençage, jusqu'alors manuelle, vers l'automatisation (1986).

La limitation majeure de cette technique résidait dans son incapacité à séquencer plus d'un gène à la fois, expliquant l'investissement considérable

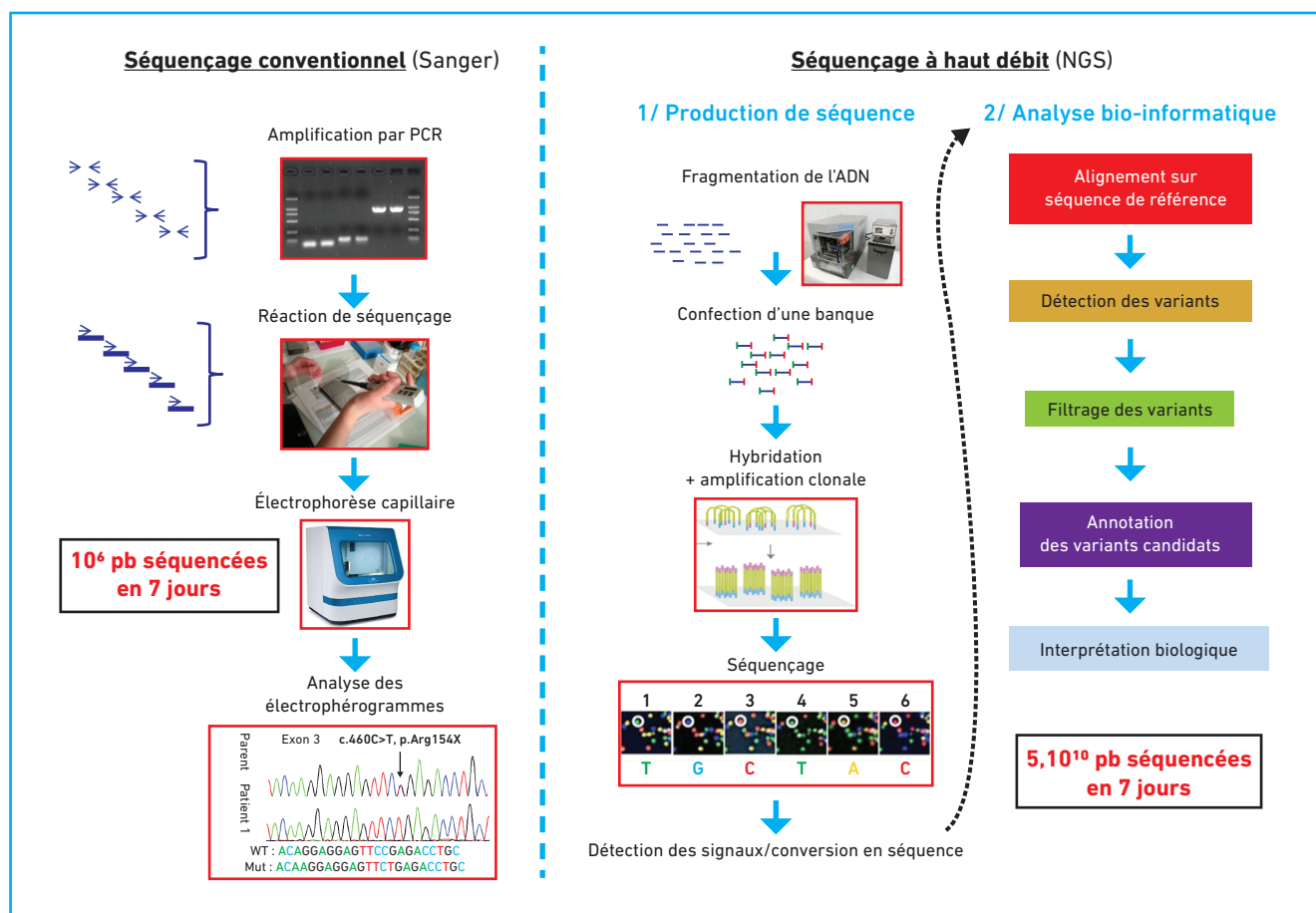


Fig. 3 : Représentation schématique des procédures du séquençage conventionnel (méthode dite de Sanger) et du séquençage à haut débit. NGS : *next generation sequencing*; pb : paires de bases. Le nombre d'étapes nécessaires à la production de séquence est beaucoup plus élevé dans le contexte d'un séquençage haut débit que dans celui d'un séquençage conventionnel. S'y ajoute une procédure complexe d'expertise informatique visant à sélectionner, parmi les multiples variants identifiés, les quelques variants dits "candidats" susceptibles de rendre compte du phénotype du patient. C'est finalement la confrontation entre cliniciens, biologistes et bio-informaticiens qui permettra (parfois...) d'identifier le gène et la (les) mutation(s) causale(s).

(plusieurs centaines de millions d'euros) nécessaire à l'obtention d'une première version de la séquence complète du génome humain en 2004 [5]. Ces données de séquence ont permis l'éclosion, à partir de 2008 aux USA, d'une nouvelle révolution technique, le séquençage haut débit ou *next generation sequencing* (NGS) (fig. 3). Cette innovation technique ouvrait la possibilité de séquencer pour un coût "raisonnable" plusieurs centaines de gènes simultanément (séquençage de panels de gènes), voire la totalité des régions codantes des quelque 20 000 gènes codant une protéine chez l'homme (séquençage d'exome entier ou *whole exome sequencing* [WES]), ou encore la totalité (régions codantes 2 % et non codantes 98 %) des 3 milliards de paires de bases du génome humain (séquençage de génome entier ou *whole genome sequencing* [WGS]) [6-7].

Ces outils ont permis d'appréhender l'extrême diversité interindividuelle du génome humain : à titre d'exemple, le consortium en charge du projet "1 000 génomes" rapportait en 2015 près de 85 millions de polymorphismes mononucléotidiques (*single nucleotide polymorphisms* [SNP]) à partir des 1 000 génomes séquencés [8-9]. Cette variabilité interindividuelle du génome humain ne se limite pas aux variations également des segments d'ADN d'une taille pouvant atteindre plusieurs mégabases, dont le nombre de copies varie (de 0 à 4 le plus souvent) d'un individu à l'autre (plus de 10 000 *copy number variants* [CNV] répertoriés chez l'homme), comme a permis de le visualiser la technique dite "d'hybridation génomique comparative" ou *CGH array* (fig. 4), décrite au milieu de la décennie 2000-2010.

Ces approches de séquençage haut débit et de *CGH array*, initialement confinées au domaine de la recherche en raison de leur coût et de la complexité de leur mise en œuvre, ont progressivement été transférées au domaine du diagnostic au début des années 2010, ouvrant ainsi une nouvelle ère de la génétique humaine, l'ère génomique, fondée sur le développement des outils bioinformatiques.

Quels outils pour quels types de mutations ?

Les types de variants d'ADN les plus fréquemment rencontrés en pathologie humaine sont les mutations ponctuelles (substitution d'un nucléotide par un autre), les microréarrangements (perte – *délétion* – ou gain – *insertion* – de quelques nucléotides ou quelques dizaines de nucléotides) et les

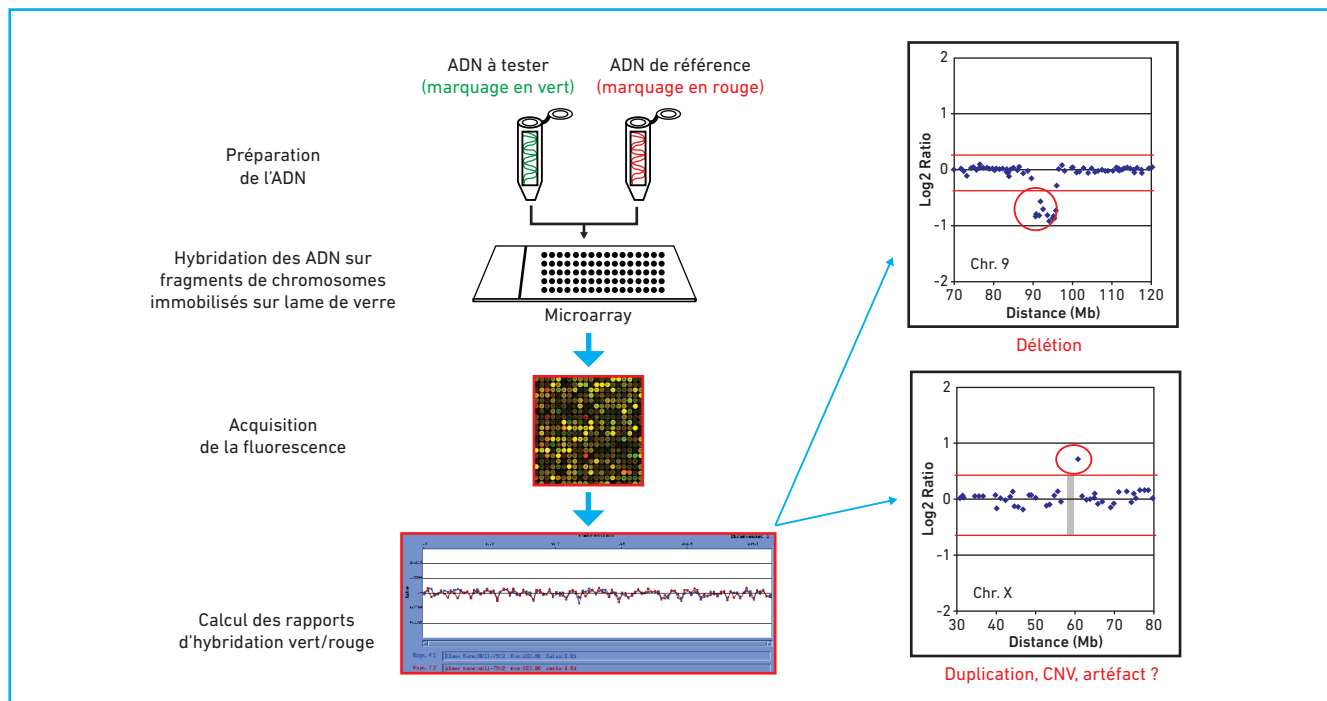


Fig. 4 : Représentation schématique de la procédure d'hybridation génomique comparative sur puce à ADN (*CGH array*). Délétion : perte d'ADN ; duplication : gain d'ADN ; CNV (*copy number variant*) : variation du nombre de copies (gain ou perte) d'une région de l'ADN testé. Le principe de la CGH est de comparer le nombre de molécules d'ADN d'un patient par rapport à celui d'un témoin. Les ADN patient/témoin entrent en compétition pour se fixer sur les séquences d'ADN de synthèse immobilisées sur une puce. Une fluorescence rouge indique qu'il y a plus d'ADN de référence que d'ADN du patient au niveau de la séquence d'ADN considérée (délétion). Une fluorescence verte indique qu'il y a plus d'ADN du patient que d'ADN de référence au niveau de la séquence d'ADN considérée (duplication ou triplification). Les signaux de fluorescence sont numérisés, quantifiés et traités par informatique pour aboutir à un idéogramme. Le pouvoir de résolution de cette technique est 50 fois supérieur à celui du caryotype conventionnel (100 kilobases vs 5 mégabases).

I Revues générales

macroréarrangements (délétions ou duplications pouvant atteindre plusieurs mégabases). Toutes ces catégories de variants de séquence sont détectables par séquençage haut débit, même si la *CGH array* demeure la méthode de référence pour la détection pangénomique des grands réarrangements (**fig. 4**). Seuls quelques types de variations de séquence beaucoup plus rares, tels que les expansions de triplets nucléotidiques (syndrome de fragilité de l’X, chorée de Huntington, dystrophie myotonique de Steinert...) (**fig. 2**) ou les mutations épigénétiques (syndromes de Prader-Willi, Angelman, Beckwith-Wiedemann...) échappent à ces approches et nécessitent la mise en œuvre de techniques particulières telles que *Southern blot* ou étude de méthylation de l’ADN.

Une des difficultés majeures à laquelle sont fréquemment confrontés les généticiens est d’établir avec certitude qu’un variant de séquence identifié chez un individu est effectivement responsable du phénotype qu’il présente. La réponse est parfois évidente, lorsque la consultation des bases de données de mutations humaines indique que le variant du gène candidat a précédemment été démontré comme pathogène et à l’origine d’une présentation clinique similaire à celle du patient testé.

Mais la situation est souvent plus complexe lorsque, pour un patient donné, plusieurs variations de séquence “candidates” ont été détectées dans des gènes dont la fonction est mal connue et dont aucune mutation n’a jusqu’alors été rapportée en pathologie humaine. Il est alors vraisemblable que la plupart de ces variants candidats soient des variants “neutres” (SNP, voir plus haut), c’est-à-dire sans impact sur les produits des gènes qui les portent, mais cela est bien souvent difficile à démontrer.

La meilleure approche pour ce faire est en théorie de recourir à une validation fonctionnelle consistant à étudier, à partir des cellules du patient, l’impact

éventuel de chaque variant de séquence sur la structure ou la fonction de l’ARNm ou de la protéine codés par le gène correspondant. Il s’agit en fait d’études onéreuses et chronophages qui ne sont, pour leur grande majorité, pas réalisables dans le cadre d’un laboratoire de diagnostic génétique.

Force est alors de se tourner vers les multiples logiciels de prédiction bio-informatique (validation *in silico*) qui tentent de modéliser l’impact d’un variant de séquence sur l’ARNm ou la protéine, sachant que les réponses obtenues sont souvent peu claires, voire contradictoires. On parle de variants de signification inconnue. Ces incertitudes soulignent l’importance d’une concertation entre généticiens cliniciens, généticiens biologistes, bio-informaticiens et chercheurs lors de la phase d’interprétation des résultats, afin de réduire le risque d’erreurs de diagnostic aux conséquences parfois catastrophiques.

Les nouveaux outils du diagnostic génétique : quel impact sur les laboratoires ?

L’irruption du séquençage haut débit, il n’y a guère plus de cinq ans, a entraîné de multiples bouleversements dans le paysage du diagnostic génétique. Le risque de contamination par de l’ADN exogène lors des multiples étapes de préparation des échantillons au séquençage a rendu nécessaire la création de locaux spécifiquement dédiés au NGS au sein des laboratoires. La diversification accélérée des gammes de séquenceurs a nécessité des investissements récurrents et relativement lourds, difficiles à assumer, particulièrement par les laboratoires dépendant d’établissements publics. Les techniciens et les biologistes ont dû se former à ces nouvelles techniques de séquençage longues et complexes et au maniement des outils bio-informatiques.

Surtout, un choix stratégique a dû être fait entre séquençage de panels de gènes,

orientés vers une catégorie de maladies génétiques (cancers, génodermatoses, déficits intellectuels, maladies métaboliques, maladies osseuses constitutionnelles, maladies rénales, maladies neurosensorielles...), et séquençage d’exome entier, s’adressant en théorie à la totalité des maladies génétiques [10]. Si le séquençage de panels de gènes a montré ses limites dans certaines situations avec un taux de détection de mutations peu satisfaisant (déficiences intellectuelles, anomalies du développement embryofœtal...), la mise en œuvre du séquençage d’exome entier s’est révélée hors de portée pour la plupart des laboratoires de diagnostic génétique en France, en raison du coût prohibitif de l’équipement et de l’investissement nécessaire en moyens informatiques et bio-informatiques.

De ce fait, la France a pris un retard notable en matière de séquençage du génome vis-à-vis de nombreux pays anglo-saxons et asiatiques. C’est la raison pour laquelle a été lancé en 2016 le plan national France Médecine Génomique 2025 (PFMG 2025) [11]. Ce plan a pour objectif la création à l’horizon 2025 de 12 plateformes de séquençage à très haut débit réparties sur le territoire et dédiées aux analyses diagnostiques, pronostiques et thérapeutiques dans les champs des cancers, des maladies rares et des maladies communes. Deux plateformes sont en cours de montée en charge, l’une à Paris – SeqOIA – et l’autre à Lyon – Auragen –, et se répartiront dans un premier temps les prélèvements issus des services de génétique des moitiés nord et sud de la France, avec pour mission les séquençages d’exome, de génome et d’ARN (RNA-seq) [10], les séquençages de panels de gènes demeurant l’apanage des services hospitaliers ou des laboratoires privés de génétique moléculaire.

La mise en œuvre de ces plateformes marque la transition entre une période dominée par la problématique de la production de données génomiques et une ère nouvelle, marquée par le défi de

l'interprétation de la multitude de données générées par les nouvelles techniques de séquençage.

Les nouveaux outils du diagnostic génétique : quel impact sur les patients ?

1. Diagnostic postnatal

Le passage du séquençage conventionnel au NGS a permis d'obtenir un taux de diagnostic moléculaire très supérieur pour un nombre beaucoup plus important de patients, pour certaines catégories de maladies rares qui offrent des possibilités de phénotypage fin : maladies ophtalmologiques, génodermatoses, maladies osseuses, maladies métaboliques, maladies rénales... Il s'agit là d'une véritable valeur ajoutée de la génétique moléculaire dans le champ des maladies rares, qui interrompt l'errance diagnostique et permet l'accès :

- des patients à de multiples essais thérapeutiques, rendus possibles par une meilleure compréhension de la fonction des produits des gènes mutés ;
- des familles à des procédures de prévention des récidives.

Le séquençage en panels de gènes a cependant montré ses limites dans certaines situations, avec un taux de détection de mutations ne dépassant pas 30 % (déficiences intellectuelles, anomalies du développement, maladies mitochondriales...), justifiant la mise en œuvre prochaine d'approches pangénomiques de type WES ou WGS sur les plateformes du PFMG 2025. Ces nouvelles techniques constituent un formidable outil pour l'identification à venir des gènes responsables de très nombreuses maladies rares qui demeurent inexpliquées.

Un des inconvénients potentiels majeurs de ces approches pangénomiques est la détection fréquente d'événements non sollicités. On entend par là la découverte, lors d'un test réalisé pour une indication précise (cardiomyopathie,

déficience intellectuelle...), de variants de séquence affectant un ou plusieurs gènes sans rapport avec la maladie d'origine, mais susceptibles de prédisposer à une maladie génétique jusqu'alors asymptomatique. Le généticien doit-il donner cette information ? Si oui, toujours ? Ou seulement lorsque le gène en cause est responsable d'une maladie traitable (gène de prédisposition à un cancer...) ? Mais sait-on toujours prévoir les conséquences d'une mutation, même apparemment "sévère", sur l'état de santé futur du patient ? Le patient veut-il savoir ?

Ces questions animent les débats de la communauté génétique depuis des années sans qu'un consensus ne se dégage [12]. Un récent avis émanant de la Direction des affaires civiles du ministère de la Justice rappelle que, "*en l'état actuel du droit, la révélation systématique ou 'prévue' à l'avance n'est pas autorisée par les textes, sans que cela*

POINTS FORTS

- La génétique médicale a été révolutionnée par l'émergence de techniques de séquençage à haut débit qui permettent désormais de séquencer la totalité du génome humain.
- Le génome humain est caractérisé par une extraordinaire variabilité, en termes de substitutions nucléotidiques (*single nucleotide polymorphisms* ou SNP) et de grands réarrangements (*copy number variants* ou CNV).
- Le défi auquel sont confrontés les généticiens est de réussir à identifier, parmi les milliers de variants du génome, celui ou ceux qui sont à l'origine d'une maladie génétique à gène jusqu'alors inconnu.
- Les données issues du séquençage du génome ont un impact majeur sur la prise en charge des maladies rares pour le diagnostic (postnatal, prénatal, préimplantatoire et peut-être demain préconceptionnel) comme pour la thérapeutique (inclusion dans des essais cliniques).
- Les données issues du séquençage du génome ont un impact majeur sur la prise en charge de la quasi-totalité des cancers en termes de pronostic, de théranostic (orientation du choix thérapeutique) et de suivi.

ne vienne pour autant entraver la révélation, au cas par cas, de découvertes fortuites médicalement importantes, et pour lesquelles des mesures de prévention ou de soins peuvent être apportées".

2. Diagnostic présymptomatique

Certaines maladies génétiques monogéniques graves peuvent demeurer asymptomatiques pendant une longue période. La chorée de Huntington, maladie neurodégénérative grave et d'installation progressive, se transmet sur un mode dominant (1 risque sur 2 dans la descendance). La mutation, présente dès la naissance, n'entraîne de manifestations cliniques qu'entre 30 et 50 ans le plus souvent. Dans une famille avec un individu atteint, certains apparentés à risque cliniquement indemnes désirent connaître leur statut de porteur de la mutation. Dans la mesure où il n'existe actuellement aucun traitement de cette affection, l'impact psychologique d'une

Revue générale

telle information nécessite un accompagnement médical et psychologique spécifique [12].

La situation d'une anomalie héréditaire du cycle de l'urée, le déficit en ornithine carbamoyltransférase (OTC), est bien différente. Certaines mutations de ce gène sont responsables d'une forme tardive de la maladie qui se manifeste par une mort subite chez un adulte entre 20 et 50 ans, jusqu'alors en parfaite santé. Dans une famille avec un individu atteint, le dépistage de la mutation chez les apparentés entraîne la mise en place de mesures hygiéno-diététiques simples qui écartent le risque de mort subite. Dans ce cas de figure, le bénéfice d'un test pré-symptomatique est indiscutable [13].

3. Diagnostic prénatal

Le diagnostic prénatal (DPN) (fig. 5) d'une maladie génétique est proposé

dans deux situations. Il peut s'agir d'un DPN "programmé", lorsque le couple se sait à risque élevé de transmettre une maladie génétique grave et incurable avant la conception, par exemple en raison de l'émergence de cette pathologie chez un enfant précédent. La faisabilité d'un tel DPN est subordonnée à l'identification préalable de la ou des mutations à l'origine de la maladie. L'ADN fœtal est recueilli à partir d'un prélèvement de trophoblaste à 12 semaines d'aménorrhée (SA) ou de cellules amniotiques à 16 SA, avec le risque faible mais réel de fausse couche qui en découle. On peut espérer dans les années à venir que l'ADN fœtal pourra être récupéré ou au moins analysé à partir d'une prise de sang maternel pour la plupart des maladies monogéniques relevant d'un DPN, sur le modèle du dépistage de la trisomie 21 [14].

La deuxième situation est celle du DPN sur signe d'appel échographique.

La détection d'une anomalie morphologique fœtale inaugure souvent une période d'incertitude diagnostique et pronostique, avec l'impact psychologique qui en découle, dans un contexte d'urgence relative. Le défi qui s'offre aux généticiens est d'être en capacité, dans le temps de la grossesse, de séquencer les centaines de gènes potentiellement en cause et d'identifier celui dont une (des) mutation(s) est (sont) à l'origine de l'anomalie fœtale, permettant d'établir un pronostic et constituant ainsi une aide à la prise de décision vis-à-vis de la poursuite ou de l'interruption de grossesse [14].

4. Dépistage prénatal non invasif

Depuis l'arrêt du 23 juin 2009, le dépistage de la trisomie 21 (T21) fœtale chez les femmes enceintes reposait sur la combinaison de 3 paramètres, l'âge maternel, la mesure de la clarté nucale et le dosage des

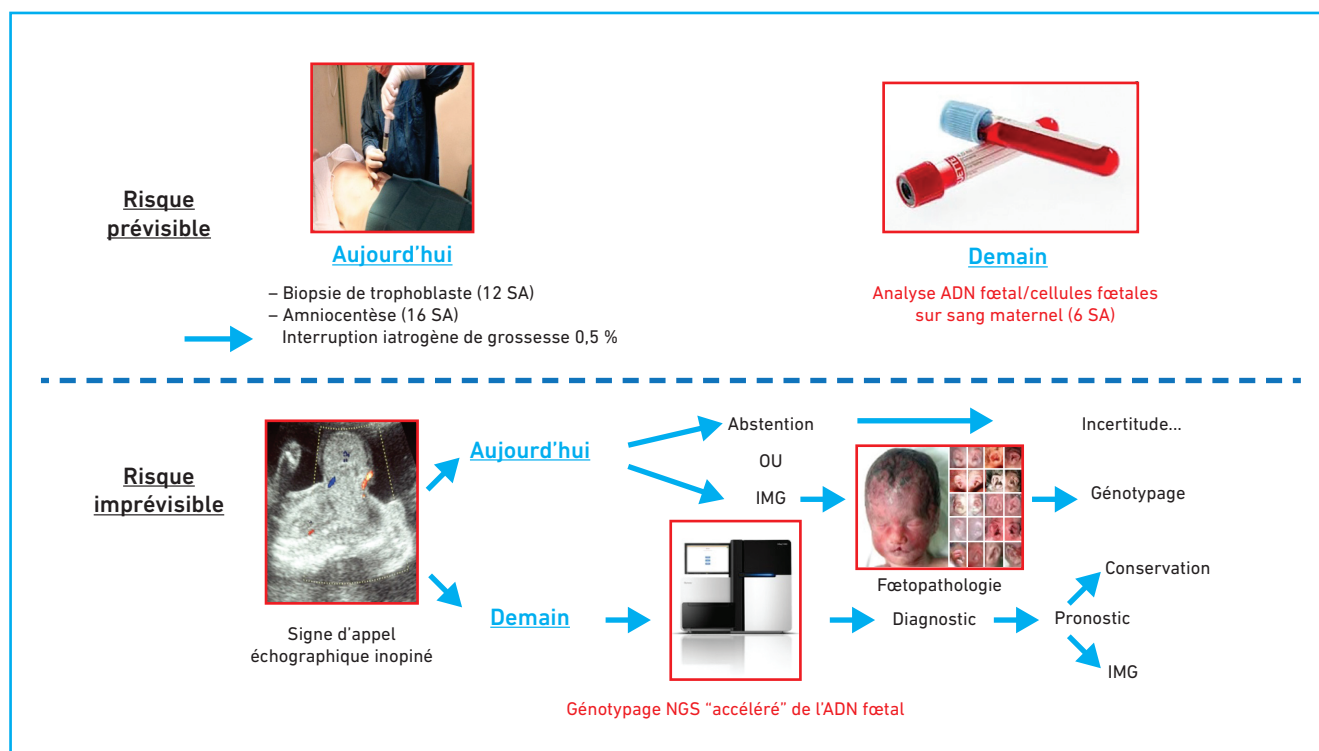


Fig. 5 : Le diagnostic prénatal (DPN) des maladies génétiques : perspectives et réalités. Risque prévisible : existence d'un antécédent familial de maladie génétique à base moléculaire identifiée préalablement à la grossesse ; risque imprévisible : survenue d'un signe d'appel échographique faisant suspecter l'existence d'une maladie génétique fœtale en l'absence d'antécédent familial ; SA : semaine d'aménorrhée ; IMG : interruption médicale de grossesse.

marqueurs sériques maternels, permettant de calculer un risque d'enfant atteint. Au-delà d'un risque de 1/250, il était indiqué de réaliser un caryotype fœtal à partir d'un prélèvement de trophoblaste ou de liquide amniotique. Il s'est avéré que la spécificité et la sensibilité du dépistage combiné était relativement faible, aboutissant à de nombreux caryotypes inutiles aussi bien qu'à des diagnostics de T21 méconnus, tandis que l'invasivité des prélèvements exposait à un risque faible mais réel de fausse couche.

La découverte de la présence d'ADN fœtal circulant dans le sang maternel (5 à 10 %), couplée à l'émergence des techniques de séquençage haut débit, a permis depuis 2015 la mise en place

d'un test de dépistage prénatal non invasif (DPNI) de la T21 réalisé à partir d'une simple prise de sang maternel [15-16]. Ce test, qui s'intercale entre le dépistage combiné et le caryotype, réduit considérablement le nombre de caryotypes inutiles et de diagnostics méconnus de T21.

5. Diagnostic préimplantatoire

Le diagnostic préimplantatoire (DPI) (*fig. 6*) est applicable dans le même contexte que celui du DPN programmé (voir ci-dessus). Il s'agit d'une procédure extrêmement lourde, consistant à induire une multi-ovulation par adjonction hormonale, à prélever chaque ovocyte et à y injecter un spermatozoïde du conjoint, à

mettre les zygotes en culture, à prélever un blastomère (cellule embryonnaire) sur chaque embryon au stade 8 cellules, à réaliser en moins de 24 h le test génétique permettant de déterminer quels sont les embryons sains et atteints, et à réimplanter dans l'utérus de la mère un ou deux embryons sains lorsque cela est possible [17-18].

L'avantage principal par rapport au DPN est de s'affranchir de la perspective d'interruption médicale de grossesse, inhérente à la procédure du DPN. Les inconvénients majeurs sont la lourdeur du processus (le délai d'attente entre une demande de DPI et sa réalisation atteint 18 à 24 mois en France) et le taux de succès (naissance d'un enfant) qui ne dépasse

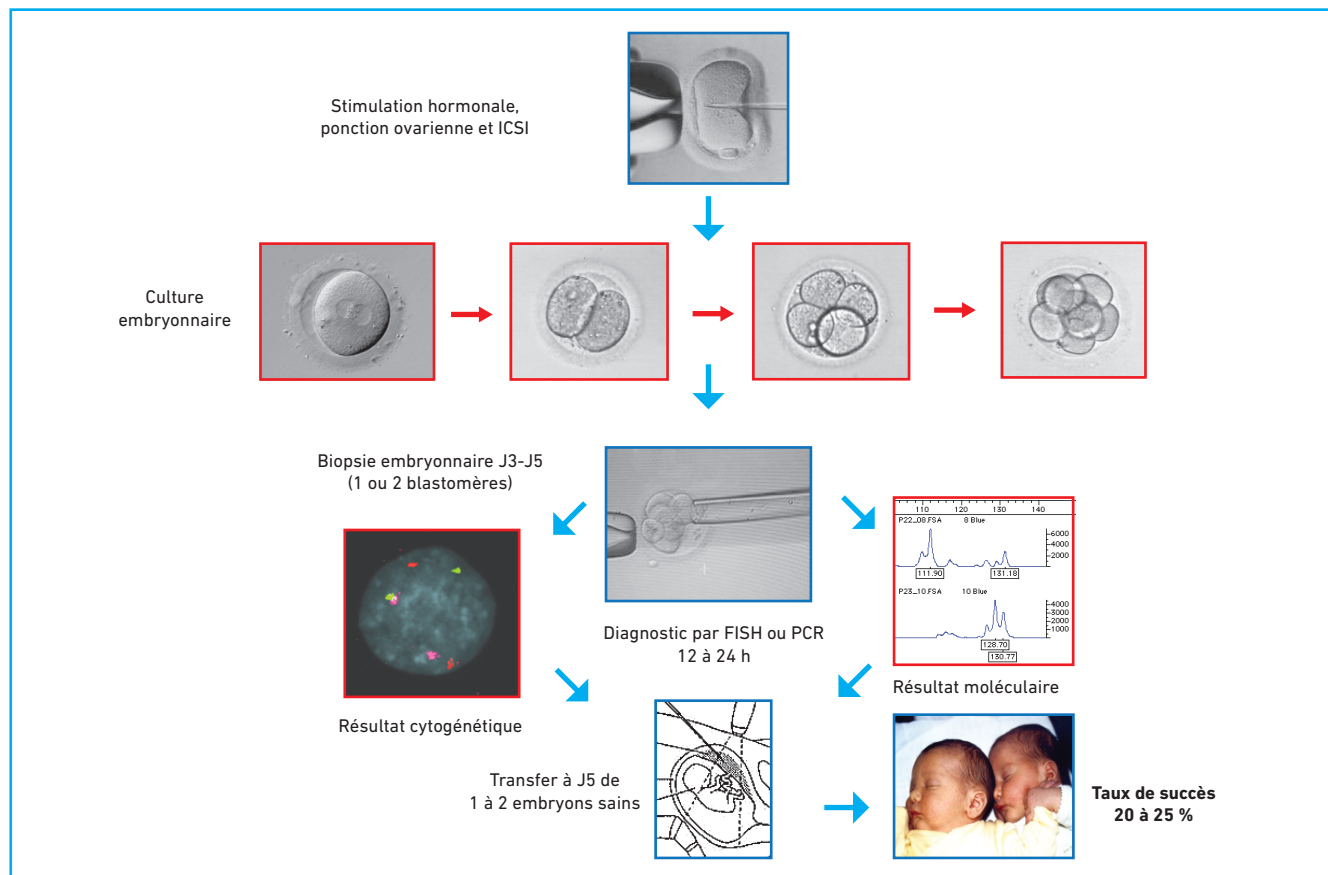


Fig. 6 : Représentation schématique de la procédure de diagnostic préimplantatoire (DPI). ICSI (*intra cytoplasmic sperm injection*): mode de fécondation *in vitro* par injection d'un spermatozoïde dans un ovocyte; blastomère: cellule d'embryon précoce; FISH (*fluorescent in situ hybridization*): hybridation *in situ* sur préparation chromosomique à l'aide d'une sonde marquée; PCR (*polymerase chain reaction*): amplification *in vitro* d'ADN par réaction de polymérisation en chaîne. Le diagnostic moléculaire est réalisé en moins de 24 h, soit par hybridation *in situ* en cas d'anomalie chromosomique (translocation par exemple), soit par étude de ségrégation de marqueurs polymorphes en cas de mutation génique.

■ Revues générales

guère 20 %. Les aléas, difficultés techniques et contraintes environnementales découlant des tests génétiques sur cellule unique ont conduit le législateur à limiter cette pratique à 5 centres hautement spécialisés (Necker-Béclère, Strasbourg, Montpellier, Nantes, Grenoble).

6. Diagnostic préconceptionnel

Aujourd'hui, le diagnostic préconceptionnel (DPC) s'effectue dans le cadre d'un conseil génétique dans les familles où il existe un cas index de maladie héréditaire monogénique (mucoviscidose par exemple). Il repose sur le dépistage des porteurs sains de mutations responsables de la maladie en cause, l'objectif étant d'identifier parmi les couples ceux qui sont à risque élevé d'avoir un enfant atteint de cette maladie.

Dans un récent avis (avis 129, septembre 2018), le Comité consultatif national d'éthique (CCNE) propose que le DPC soit étendu à toutes les personnes en âge de procréer qui en feraient la demande [19]. Il ciblerait une liste restreinte de mutations considérées comme responsables de pathologies graves survenant chez l'enfant ou l'adulte jeune. La révision prochaine des lois de bioéthique prendra-t-elle en compte cette suggestion ?

7. Dépistage en population générale

Ce type de dépistage a pour but de diagnostiquer des variations géniques susceptibles d'entraîner une ou des pathologies graves chez une personne qui en fait la demande, sans qu'il n'y ait d'antécédents familiaux de cette ou ces pathologies. Ce dépistage est, aujourd'hui, interdit par la loi en France. Cette démarche semblerait pourtant pertinente si elle se focalisait sur des gènes dits "actionnables", c'est-à-dire des gènes dont une mutation est à l'origine d'une maladie grave, susceptible d'être prévenue ou mieux prise en charge lorsque la mutation a été détectée précocement (gènes de prédisposition à certains

cancers comme *BRCA1/BRCA2* pour les cancers du sein et de l'ovaire par exemple).

La disponibilité d'outils techniques performants, l'émergence de sociétés privées proposant de tels tests, voire le séquençage complet du génome sur Internet et la pression sociétale pourraient remettre en cause cette interdiction à brève échéance. L'expérience nous montre déjà que l'utilisation de ces tests en l'absence d'accompagnement médical par un généticien ou un conseiller en génétique aboutit fréquemment à de multiples questions de la part du "consommateur", bien souvent sources d'anxiété, voire de décisions inappropriées et délétères [20].

8. Théranostic

Le théranostic a pour vocation de donner aux cliniciens les moyens de mettre en place un traitement personnalisé pour chaque patient, en prédisant l'efficacité d'un traitement, voire les échappements thérapeutiques et autres effets secondaires inhérents à ces thérapies.

Ainsi, en matière de cancer ("onco-génétique"), les tests génétiques ont révolutionné la prise en charge de la quasi-totalité des cancers [21]. Avant la mise en œuvre d'un traitement, les analyses génétiques portent sur l'ADN de la tumeur qui est modifié par rapport à l'ADN des cellules normales : identifier les mutations de l'ADN tumoral (et dans certains cas les anomalies de méthylation de cet ADN, "épigénomique") permet ainsi de sélectionner l'approche thérapeutique la plus efficace en fonction du génotype tumoral (médecine dite personnalisée ou de précision). Après traitement, la recherche de mutations résiduelles au niveau d'éventuelles cellules tumorales circulant dans le sang (biopsie liquide) permet de détecter une rechute infraclinique et de proposer plus rapidement un traitement [22-23].

En matière de maladies rares, on peut citer l'exemple de l'amaurose

congénitale de Leber, une cause de cécité grave héréditaire. Parmi les multiples gènes potentiellement en cause dans cette affection, la démonstration par un test génétique de l'implication du gène *RPE65* permet actuellement d'inclure ces patients dans un essai de thérapie génique spécifique à ce gène qui devrait aboutir à la récupération d'une acuité visuelle notable [24].

■ Conclusion

Prescrire un test génétique n'est pas un geste anodin. Il impacte le patient, mais aussi bien souvent la parentèle. Un test mal prescrit ou mal interprété peut avoir des conséquences dramatiques, qui se manifestent souvent sur plusieurs générations. La prescription du test comme l'annonce des résultats doivent s'accompagner d'une prise en charge et souvent d'une proposition d'orientation vers différents spécialistes, au mieux assurées par le généticien clinicien et le conseiller en génétique.

Si les tests génétiques viennent en aide à de nombreux patients, nous ne pouvons pas tout attendre de la génétique. L'outil est certes souvent extraordinaire, mais son utilisation doit rester raisonnée.

BIBLIOGRAPHIE

1. ROMANA S, BONNEFONT JP, CAVAZZANA-CALVO M *et al.* *Méthodes d'étude et d'analyse du génome*. Collection Pass'Santé. Ed Elsevier, 2011.
2. WATSON JD, CRICK FH. Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*, 1953;171:737-738.
3. LEJEUNE J, GAUTIER M, TURPIN R. Étude des chromosomes somatiques de neuf enfants mongoliens. *Comptes Rendus Hebd Seances Acad Sci*, 1959;248:1721-1722.
4. KEREM B, ROMMENS JM, BUCHANAN JA *et al.* Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. *Science*, 1989;245:1073-1080.
5. Human Genome Sequencing Consortium, International. Finishing

- the euchromatic sequence of the human genome. *Nature*, 2004;431:931-946.
6. NICOLAS G. État des lieux des connaissances et des outils en génomique. *Med Sci*, 2018;34:37-39.
 7. JORDAN B. Actualités du séquençage d'ADN. *Med Sci*, 2019;35:81-83.
 8. The 1000 Genomes Project Consortium *et al.* A global reference for human genetic variation. *Nature*, 2015;526:68-74.
 9. JORDAN B. Variants fréquents et rares, caractères multigéniques et héritabilité perdue. *Med Sci*, 2017;33:674-676.
 10. RÖTIG A. Séquençage d'exome et de transcriptome : des approches complémentaires pour identifier des gènes impliqués dans la survenue de maladies. *Med Sci*, 2017;33:1045-1047.
 11. DOLLFUS H. Le plan France Médecine Génomique 2025 et les maladies rares. *Med Sci*, 2018;34:39-41.
 12. BAERTSCHI B. Diagnostics génétiques. Droit de ne pas savoir ou devoir de savoir ? *Med Sci*, 2015;31:561-565.
 13. BRASSIER A, GOBIN-LIMBALLE S, ARNOUX JB *et al.* Long-term outcome in Ornithine Transcarbamylase Deficiency (OTC): a series of 90 patients. *Orphanet J Rare Dis*, 2015;10:58.
 14. HORN R. La France et la Grande-Bretagne à l'ère de la médecine génomique. Nouveaux défis éthiques en médecine de la reproduction. *Med Sci*, 2019;35:163-168.
 15. JORDAN B. Du bon usage d'un test non invasif. *Med Sci*, 2015;31:335-338.
 16. MALAN V, BUSSIÈRES L, WINER N *et al.* SAFE 21 Study Group. Effect of cell-free DNA screening vs direct invasive diagnosis on miscarriage rates in women with pregnancies at high risk of trisomy 21: a randomized clinical trial. *JAMA*, 2018;320:557-565.
 17. STEFFANN J, JOUANNET P, BONNEFONT JP *et al.* Could failure in preimplantation genetic diagnosis justify editing the human embryo genome? *Cell Stem Cell*, 2018;22:481-482.
 18. BAERTSCHI B. Le diagnostic préimplantatoire (DPI) à l'ère de la médecine prédictive. *Med Sci*, 2019;35:72-77.
 19. CHNEIWEISS H. Les états généraux de la bioéthique de 2018. *Med Sci*, 2018;34:107-108.
 20. ESSERMAN LJ, THOMPSON IM, REID B *et al.* Addressing overdiagnosis and overtreatment in cancer: a prescription for change. *Lancet Oncol*, 2014;15:e234-e242.
 21. JORDAN B. Cancer : les trois époques de la médecine personnalisée. *Med Sci*, 2017;33:905-908.
 22. THIERRY AR, TANOS R. La biopsie liquide. Une voie possible pour le dépistage du cancer. *Med Sci*, 2018;34:824-832.
 23. ARAVANIS AM, LEE M, KLAUSNER RD. Next-generation sequencing of circulating tumor DNA for early cancer detection. *Cell*, 2017;168:571-574.
 24. RUSSELL S, BENNETT J, WELLMAN JA *et al.* Efficacy and safety of voretigene neparvovec (AAV2-hRPE65v2) in patients with RPE65-mediated inherited retinal dystrophy: a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet*, 2017;390:849-860.

Les auteurs ont déclaré ne pas avoir de conflits d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.