

Du bon usage des diagnostics génétiques

Colloque d'animation de la recherche
organisé par le Comité d'Interface
Génétique avec les Comités
d'Interface Anatomie et Cytologie
Pathologiques, Biologie clinique,
Cardiologie, Dermatologie,
Endocrinologie-Diabète, Néphrologie,
Neurosciences, Pédiatrie

26 et 27 janvier 2001
Institut Pasteur, Paris

Inserm

Institut national
de la santé et de la recherche médicale

Table des matières

Introduction	1
L'encadrement juridique du diagnostic génétique	2
• Le décret du 23 juin 2000	2
• Du cadre juridique à la pratique médicale	2
• Législation et dérives potentielles de l'usage des diagnostics génétiques	3
Le diagnostic génétique d'une maladie déclarée	4
• Maladies « génétiques »	4
1. Diagnostic génétique de la thrombose veineuse	4
2. Tests génétiques et infertilité masculine	5
3. Tests génétiques et retard mental	5
4. Neurofibromatose de type 1 : l'apport limité du test génétique	6
• Maladies « multifactorielles »	6
1. Groupe HLA et rhumatologie : une valeur prédictive limitée	6
2. Formes génétiquement déterminées de maladies multifactorielles	6
• Diagnostic génétique en cancérologie	7
Le diagnostic génétique présymptomatique	8
• Pourquoi demander un diagnostic génétique présymptomatique ?	8
• Diagnostic génétique chez l'adulte asymptomatique	8
1. Prédipositions génétiques aux cancers du sein et de l'ovaire	8
2. Tests génétiques en cardiologie	8
3. Syndrome de Marfan	9
• Le diagnostic génétique chez le mineur asymptomatique	9
• Le rôle de l'équipe pluridisciplinaire	10
Le dépistage génétique	12
• Le succès du dépistage de la phénylcétonurie	12
• Autres projets de dépistage en France	12
• L'hétérogénéité du dépistage génétique en Europe	13
La pratique des tests génétiques	14
• De la recherche à la pratique quotidienne	14
1. Le développement des tests génétiques en France : aperçu historique	14
2. L'organisation en réseaux	14
• Le contrôle qualité	15
• L'organisation du conseil génétique : bilan, besoins, perspectives	15

Introduction

Avec le décret du 23 juin 2000, la mise en place d'un dispositif législatif spécifique aux examens génétiques initiée par les lois de bioéthique de 1994 se poursuit. Ce décret concerne plus particulièrement la prescription des diagnostics génétiques : examens visés, conditions de prescription, modalités de communication des résultats, agrément des laboratoires d'analyses médicales. Outre la création d'une commission consultative chargée d'examiner les dossiers d'autorisation des laboratoires et d'agrément des praticiens, le décret introduit des dispositions particulières pour les personnes asymptomatiques, les distinguant ainsi des personnes symptomatiques. Il encadre également les tests diagnostics réalisés chez le mineur.

La finalité du diagnostic génétique est très variable d'une maladie à l'autre. Elle dépend de la sévérité de la maladie héréditaire, de son mode de transmission (autosomique ou multigénique, récessif ou dominant), de la pénétrance des mutations, de leur corrélation avec les différentes formes de la maladie, et de la fiabilité des autres approches diagnostiques (clinique, biologique, radiologique...). Pour certaines maladies (thrombose veineuse, infertilité masculine, hémochromatose, arythmies cardiaques...), le diagnostic génétique donne accès à des mesures thérapeutiques ou préventives efficaces et est donc justifié d'un point de vue médical. Pour d'autres maladies comme la maladie de Huntington, le diagnostic génétique répond uniquement au désir du sujet de se savoir porteur ou non de la mutation responsable de cette maladie.

Comment appliquer dans la pratique le décret du 23 juin 2000 ? Quelle est la frontière entre patient symptomatique et patient asymptomatique ? Comment la loi protège-t-elle contre l'usage potentiel des résultats des tests génétiques par les assurances et par les employeurs ? Quelles sont les maladies qui justifient d'un dépistage génétique ? Quelle est la place du diagnostic génétique chez le mineur ? Comment mieux structurer la pratique des tests génétiques ?

Toutes ces questions ont été débattues au cours du colloque d'animation organisé par les Comités d'interface de l'Inserm*, les 26 et 27 janvier 2001 à l'Institut Pasteur (Paris). Il a réuni pour la première fois des intervenants issus des différentes disciplines impliquées dans le diagnostic génétique : médecins spécialistes, médecins généralistes, biologistes, psychologues, juristes, responsables politiques, membres d'associations de malades.

** Comités d'Interface entre l'Inserm et les Sociétés de Spécialités Médicales.*

L'encadrement juridique du diagnostic génétique

• Le décret du 23 juin 2000

Jusqu'au milieu des années 1970, l'utilisation des outils génétiques (cytogénétique, diagnostic biochimique des « pathologies moléculaires ») se limitait essentiellement au diagnostic des personnes malades. La contraception et l'avortement étaient interdits, et les indications de l'interruption thérapeutique de grossesse étaient restreintes par la loi Veil de 1975, ce qui limitait « de fait » l'usage du diagnostic prénatal. Il en était de même pour le dépistage néonatal de masse mis en place à cette époque. Ce dépistage était contrôlé par « l'association française pour le dépistage et la prévention des handicaps de l'enfant », un organisme professionnel doté de statut d'association Loi 1901. Le développement de la procréation médicalement assistée puis des recherches en génomique au début 1980 a renforcé les préoccupations éthiques sur les dérives potentielles de la biomédecine, et en particulier de la génétique. C'est de ces préoccupations que sont issues les lois dites de bioéthique du 29 juillet 1994. Deux principes fondamentaux ont été mis en place par ces lois pour l'examen des caractéristiques génétiques d'un individu : sa restriction à des finalités médicales ou de recherche scientifique, et le recueil obligatoire du consentement libre et éclairé du patient¹.

Le décret du 23 juin 2000 s'inscrit dans la continuité de ces lois, en définissant le cadre général de la prescription des examens des caractéristiques génétiques d'une personne à des fins médicales. Tous les examens cytogénétiques et de génétique moléculaire (y compris la cytogénétique moléculaire) sont concernés par ce décret. Il englobe également certains examens phénotypiques chez le patient asymptomatique dans la mesure où ces analyses donnent accès au génotype. C'est le cas par exemple de l'analyse de la dystrophine dans la myopathie de Duchenne. Le décret précise les conditions de prescription et de communication des résultats. L'examen génétique est prescrit dans le cadre d'une consultation individuelle pour le patient symptomatique. Pour le patient asymptomatique, le médecin prescripteur doit de plus appartenir à « une équipe pluridisciplinaire rassemblant des compétences cliniques et génétiques ». Le décret rappelle que

le recueil du consentement libre, éclairé et écrit du patient est nécessaire à la réalisation de l'examen. Le « droit de ne pas savoir » doit être respecté à tout moment, y compris au moment de la communication des résultats pour laquelle le médecin prescripteur est le seul habilité. Chez le mineur, le diagnostic génétique ne doit être prescrit que « si ce dernier ou sa famille peuvent personnellement bénéficier de mesures préventives ou curatives immédiates ». Enfin, le décret instaure la création d'une « commission consultative nationale en matière d'examen des caractéristiques génétiques à des fins médicales », chargée d'examiner les dossiers d'autorisation des laboratoires et d'agrément des praticiens.

• Du cadre juridique à la pratique médicale

Dans quelles limites le décret du 23 juin 2000 s'applique-t-il à la pratique médicale ? La diversité des maladies, des circonstances de diagnostic et des modalités de prise en charge rendent difficile l'élaboration d'une réglementation simple et complète. Dans son application, le décret présente donc certaines limites.

La distinction entre patients symptomatiques et patients asymptomatiques est parfois ambiguë. Un patient peut en effet être considéré comme asymptomatique parce qu'il ne présente pas de signes cliniques d'une maladie, mais symptomatique parce qu'il présente des signes biologiques ou radiologiques, comme c'est souvent le cas en cancérologie ou en cardiologie.

Le décret assimile les examens des caractéristiques génétiques d'une personne à des analyses de biologie médicale. Ces examens doivent donc être réalisés par les laboratoires d'analyses de biologie médicale (LABM), en vertu de la loi du 11 juillet 1975. Or l'article L753 du code de la Santé Publique stipule que les examens d'anatomopathologie (dont les examens génétiques somatiques concernés par le décret) soient exécutés par des spécialistes. Les dispositions du décret ne sont par ailleurs pas harmonisées avec les règles qui régissent le fonctionnement des laboratoires d'analyse de biologie médicale. Ces règles sont énoncées dans le guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale (GBEA). Les LABM -privés et publics- ainsi que tous les établissements de santé doivent s'y conformer par arrêté du 26 novembre 1999. D'après le GBEA, l'avis du patient prime sur celui du médecin puisque les

¹ Inscrit au code civil (article 16-10) par la loi 94-653 « relative au respect du corps humain », et au code de la santé publique (article L. 145.15 devenu L. 1131.1), par la loi 94-654 « relative au don et à l'utilisation des éléments et des produits du corps humain, à l'assistance médicale à la procréation et au diagnostic prénatal ».

examens lui sont remis en mains propres et communiqués à son médecin sauf s'il s'y oppose. Au contraire le texte du décret précise que les résultats doivent être rendus au médecin prescripteur, qui est le seul habilité à les communiquer.

La commission relative aux examens génétiques (introduite au niveau réglementaire) risque de mal s'articuler avec la commission relative au diagnostic prénatal (introduite au niveau législatif). Certains examens relèvent des deux commissions, comme par exemple le diagnostic de la maladie de Huntington. La commission relative au diagnostic génétique étant plus récente, il est possible qu'elle soit plus exigeante que la commission relative au diagnostic prénatal pour l'agrément de certains examens. Ainsi, on peut aboutir à des situations où un laboratoire est habilité à utiliser un examen pour le diagnostic prénatal, mais pas chez l'adulte. Il faut attendre la révision des lois de bioéthique pour que les deux instances puissent effectuer un travail commun.

• Législation et dérives potentielles de l'usage des diagnostics génétiques

Étendre la pratique du diagnostic génétique élargira le champ des informations génétiques disponibles pour une personne donnée. Comment la législation, dans son état actuel protège-t-elle contre l'utilisation de ces informations à des fins discriminatoires, en particulier par les employeurs ou par les assureurs ? Comme l'a souligné le Comité consultatif national d'éthique dans son avis du 30 octobre 1995, une telle dérive conduirait à franchir *« une étape d'une extrême gravité vers la mise en cause des principes d'égalité en droits et en dignité et de solidarité envers tous les êtres humains sur lesquels repose notre société »*.

Les dispositions légales relatives aux tests génétiques s'appuient sur les principes généraux posés par les lois de bioéthique du 29 juillet 1994. Ces lois mettent en place un double verrouillage contre les dérives de l'usage des tests génétiques : ils sont d'une part limités à des finalités précises, d'ordre médical ou de recherche scientifique et ne peuvent d'autre part être réalisés qu'après le recueil du consentement éclairé. En cas de non-respect de ces lois, des sanctions pénales peuvent être appliquées allant jusqu'à un an d'emprisonnement et 100 000 francs d'amendes. Ces principes traduisent la reconnaissance de véritables droits subjectifs extra-patrimoniaux à « l'intégrité physique génétique » et à « l'intégrité morale génétique ». Ces lois de bioéthique constituent-elles un garde-fou suffisant ? Leur efficacité se trouve diminuée quand on les articule avec le droit du travail ou le droit des assurances. Le terme de « finalité médicale » plutôt que

« thérapeutique » (le dépistage génétique ne débouche pas forcément sur un traitement), facilite en effet l'introduction des tests génétiques en droit du travail par le biais de la médecine du travail ou en droit des assurances par le biais du questionnaire médical.

En droit du travail, le médecin du travail est habilité à évaluer l'aptitude ou l'inaptitude d'un sujet à effectuer un travail. Rien ne s'oppose à l'utilisation des tests génétiques dans un but préventif répondant à l'intérêt du sujet. Ainsi, sous prétexte de prévention sanitaire, ils peuvent être aisément utilisés à des fins discriminatoires, pour évaluer une inaptitude future à un emploi. Seule la notion d'inaptitude « actuelle » retenue par la jurisprudence protège contre cette dérive.

Dans le domaine des assurances, l'usage potentiel des tests génétiques concerne les contrats d'assurance-vie. Dans cette branche, l'assureur évalue les risques du souscripteur liés à la maladie, au handicap et à la mort par diverses méthodes : tables d'espérance de vie, questionnaire sur la santé, les modes de vie et les sports dangereux. C'est le questionnaire de santé qui peut révéler l'histoire familiale et les risques liés à l'hérédité. En fonction des réponses à ce questionnaire, l'assureur peut exiger des analyses médicales supplémentaires. Pourra-t-il avoir recours aux tests génétiques pour affiner son interprétation ? En 1999, les assureurs ont renouvelé un moratoire de 5 ans sur la non-utilisation des tests génétiques. D'ici 2004, le législateur devra donc mettre en place des solutions équilibrées à la fois sur le plan éthique et sur le plan juridique pour éviter les discriminations sociales liées à un « mauvais profil génétique ».

2. Le diagnostic génétique d'une maladie déclarée

• Maladies « génétiques »

Les progrès récents des recherches en génétique ont permis, au cours des dix dernières années, d'identifier les gènes en cause dans de nombreuses pathologies. De plus en plus fréquemment, le diagnostic génétique complète les autres approches diagnostiques plus classiques (clinique, biologique, radiologique...), et contribue à orienter la prise en charge thérapeutique.

1. Diagnostic génétique de la thrombose veineuse

Deux mutations découvertes en 1993 et en 1996 ont fait considérablement progresser le diagnostic génétique de la thrombose veineuse ou maladie thromboembolique (MTE). La MTE, qui touche 1 personne sur 1 000 par an, résulte d'un dysfonctionnement du cycle de régulation de l'activité de la thrombine, enzyme clef du système de l'hémostase. Près de la moitié des patients atteints de MTE ont un ou plusieurs facteurs de risque génétiques. D'autres facteurs interviennent également, qu'ils soient circonstanciels (immobilisation prolongée, chirurgie, grossesse), iatrogènes (contraceptifs oraux, hormonothérapie substitutive) ou liés à une pathologie cancéreuse ou à un accident cardio-vasculaire. Chez 5 à 10 % des patients, la MTE résulte d'un déficit en antithrombine², en protéine C³ ou en protéine S⁴. La caractérisation en 1993 de la mutation Leiden du facteur V⁵ a permis de déterminer l'origine génétique d'une proportion importante de MTE. Cette mutation, qui est retrouvée chez 20 à 30 % des patients souffrant d'une MTE, rend le facteur V insensible à l'inactivation par la protéine C activée (PCa). De ce fait, l'activité de la thrombine n'est plus correctement régulée. Une autre mutation découverte en 1996 et affectant le gène de la prothrombine (facteur II⁶), est retrouvée chez 8 à 10 % des patients atteints de MTE. Dans tous les cas, la pénétrance de ces mutations est incomplète. Mais on peut évaluer le risque de survenue de MTE chez un sujet donné, en fonction de la nature de la mutation, de sa présence à l'état hétérozygote ou homozygote, ainsi que de sa combinaison avec d'autres mutations. Ainsi, chez les sujets homozygotes pour la mutation Leiden du facteur V, le risque

relatif de MTE est majeur, de l'ordre de 50 à 100. Qu'apporte la recherche de ces mutations au diagnostic de la MTE ? Lorsqu'une MTE héréditaire est suspectée, le diagnostic consiste dans un premier temps en l'analyse biologique qui comprend le dosage de la prothrombine, de la protéine C et de la protéine S. Les différentes méthodologies utilisées pour les dosages suffisent pour identifier les déficits qualitatifs et quantitatifs en antithrombine, en protéine S et en protéine C. Le diagnostic génétique est nécessaire uniquement lorsqu'on suspecte un déficit homozygote en protéine C ou en protéine S. Ces déficits sont en effet associés à des formes très sévères de thrombose, qui se manifestent dès la naissance. Le diagnostic génétique est également réalisé pour la mutation Leiden du facteur V et pour la mutation Leiden du facteur II. Pour la mutation Leiden du facteur V, il permet de confirmer le diagnostic biologique, et de distinguer les sujets homozygotes des sujets hétérozygotes. Pour la mutation Leiden du facteur II, il constitue la seule approche diagnostique fiable.

2. Tests génétiques et infertilité masculine

L'infertilité masculine se définit par un déficit de quantité, de mobilité, de morphologie ou de fonctionnement des spermatozoïdes. Elle touche 10 % des hommes. Dans 50 à 60 % des cas, les examens cliniques (spermogramme, examens chimiques et hormonaux, examens instrumentaux) suffisent pour identifier l'étiologie de l'infertilité. Quand le défaut de spermiogenèse (oligospermie et azoospermie) reste inexpliqué, l'examen génétique peut apporter une réponse. Les données les plus anciennes concernent les anomalies du caryotype : elles sont dix fois plus fréquentes chez les hommes atteints d'oligospermie ou d'azoospermie (taux de spermatozoïdes inférieur à 10 millions par ml). Grâce à la biologie moléculaire, plusieurs anomalies monogéniques ont été identifiées. Ainsi des mutations du gène CFTR (*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*) sont présentes chez 80 % des hommes atteints d'azoospermie obstructive. Dans le cas d'infertilité sécrétoire, l'anomalie génétique reste le plus souvent inexpliquée bien que plusieurs régions du chromosome Y soient mises en cause. C'est en effet sur le bras long de ce chromosome que sont localisés les

² L'antithrombine est un inhibiteur de la thrombine, avec laquelle elle forme des complexes inactifs.

³ La protéine C est un anticoagulant naturel qui agit en inactivant les facteurs Va et VIIIa.

⁴ La protéine S est le cofacteur de la protéine C.

⁵ Sous sa forme activée, le facteur V est un cofacteur indispensable à la formation de la thrombine. Son activité est régulée par la PCa qui l'inactive par protéolyse. La mutation Leiden du facteur V affecte l'un de ses sites de clivage par la PCa.

⁶ La prothrombine est le précurseur de la thrombine.

gènes nécessaires à la spermatogenèse. D'importantes anomalies du chromosome Y ont été observées chez les hommes atteints d'azoospermie sécrétoire. L'étude de ces anomalies a conduit à suggérer l'existence d'un facteur nommé AZF (pour *azoospermia factor*), indispensable à la spermatogenèse. Trois régions ont été identifiées sur le chromosome Y : AZFa, AZFb, AZFc. La sévérité de l'infertilité varie suivant la région AZF affectée : une délétion complète de la région AZFb est associée à une infertilité plus sévère qu'une délétion de la région AZFc. En recherchant des microdélétions dans ces régions, on peut donc parfois identifier la cause de l'oligospermie sévère ou de l'azoospermie, et évaluer le taux de succès de l'ICSI (injection de spermatozoïde intracytoplasmique), la seule méthode permettant à certains hommes infertiles d'accéder à la paternité avec leurs propres gamètes. Existe-t-il des risques particuliers pour un enfant conçu avec des gamètes contenant ces anomalies chromosomiques ? Aucune malformation particulière n'a été associée à la présence des anomalies du chromosome Y. Le taux de malformation majeure chez ces enfants (2-3 %) est identique à celui observé dans la population générale. En revanche, l'anomalie chromosomique est transmise à l'enfant s'il s'agit d'un garçon, qui risquera donc d'être lui-même infertile à l'âge adulte. Dans quelle mesure faut-il l'informer de ce risque ? La détection précoce des microdélétions de l'Y pourrait être justifiée d'un point de vue médical, car elle déboucherait sur une cryoconservation précoce des spermatozoïdes. Il semble en effet que l'altération de la spermatogenèse due à des microdélétions soit progressive, d'où l'intérêt potentiel de conserver des spermatozoïdes prélevés avant que cette altération ne soit trop sévère. Dans tous les cas, ce test ne présente d'intérêt qu'après la puberté. Son retentissement psychologique doit être pris en compte. Le diagnostic génétique peut en effet aider certains à surmonter cette difficulté à l'âge adulte.

3. Tests génétiques et retard mental

Plusieurs dizaines d'anomalies chromosomiques ont également été impliquées dans les retards mentaux depuis la découverte de la trisomie 21 il y a une quarantaine d'années. En France, 2 % des nouveau-nés naissent avec une déficience intellectuelle globale, provoquant des difficultés majeures d'adaptation à leur environnement. Pendant longtemps, ces retards mentaux ont été attribués aux souffrances périnatales ainsi qu'aux foetopathies toxiques ou infectieuses. On estime aujourd'hui que des anomalies génétiques sont responsables de 30 à 40 % des retards mentaux de cause connue, et de 10 % de l'ensemble de ces retards.

Identifier la composante génétique lorsqu'un enfant est atteint d'un retard mental apporte aux parents les réponses dont ils ont besoin sur la cause, le pronostic, le traitement, et le risque de récurrence chez un autre enfant du couple. Ce diagnostic est plus délicat lorsqu'il est fait d'après des signes d'appel non neurologiques, comme c'est le cas dans le syndrome de Williams. En effet, le retard mental est diagnostiqué chez l'enfant avant qu'il ne soit visible, ce qui modifie le regard des parents sur leur enfant. La personnalité de l'enfant risque alors d'être niée et réduite à sa maladie.

4. Neurofibromatose de type 1 : l'apport limité du test génétique

Le diagnostic génétique est-il toujours indispensable ? Bien que le gène impliqué dans la neurofibromatose de type 1 (NF1) soit connu, la recherche de mutations apporte pour l'instant peu d'informations. Il s'agit d'une maladie autosomique dominante due à des mutations du gène NF1, situé en position q11.2 du chromosome 17. Elle concerne une naissance sur 3 000. Le diagnostic de la maladie est fondé sur la recherche de signes cliniques facilement identifiables. Sept critères cliniques ont été établis et deux doivent être présents pour poser le diagnostic : antécédent familial, présence de taches café au lait (n=6), de neurofibromes (n=2), de lentigines des grands plis, d'hamartomes iriens ou nodules de Lisch, de dysplasies osseuses, et/ou de gliome des voies optiques. Les mutations *de novo* constituent 50 % des cas. Le diagnostic est facile quand il y a des antécédents familiaux. Il est plus difficile sans antécédents familiaux car les critères cliniques ne sont présents que chez 50 % des enfants à l'âge de 1 an, et chez 97 % des enfants à l'âge de 8 ans. La recherche des mutations génétiques dans le gène NF1 est actuellement peu informative pour plusieurs motifs. Leur expression clinique est très variable et on ne connaît pas de corrélation entre le génotype et la sévérité de la maladie. Par ailleurs, ces mutations sont très nombreuses et aucune d'entre elles n'a encore été retrouvée majoritairement chez les patients atteints de NF1. Enfin la fiabilité et la valeur prédictive du seul test commercialisé jusqu'à présent, qui consiste à rechercher la protéine tronquée, n'ont pas été évaluées. Ainsi, en l'état des connaissances et des outils diagnostiques disponibles, le test génétique n'est réalisé qu'exceptionnellement en diagnostic prénatal. Quand les bases génétiques de la NF1 seront mieux connues, il deviendra peut-être possible d'améliorer le diagnostic précoce de la maladie, en particulier chez les enfants ne présentant pas d'antécédents familiaux.

• **Maladies « multifactorielles »**

À côté des maladies héréditaires pour lesquelles on connaît précisément l'influence des anomalies génétiques, il existe des maladies plus communes telles que l'hypertension artérielle, le diabète ou les rhumatismes, dont la survenue est influencée par des facteurs environnementaux et génétiques. Le rôle précis de chacun de ces facteurs n'est pas déterminé. Les facteurs génétiques des maladies multifactorielles sont multiples pour une maladie donnée et se distinguent par leur fréquence élevée dans la population générale, contrairement aux génotypes mutés des maladies héréditaires. Ainsi, un grand nombre de personnes en bonne santé sont porteuses de ces facteurs génétiques et resteront indemnes. Il s'agit donc de facteurs de prédisposition et non de facteurs de « fatalité ».

1. Groupe HLA et rhumatologie : une valeur prédictive limitée

En raison de la fréquence élevée des facteurs génétiques dans la population générale, la détection d'une prédisposition génétique a une valeur prédictive très limitée. Le pouvoir prédictif du test génétique peut cependant devenir intéressant dans le cas d'une population sélectionnée selon des critères cliniques précis, validés par des études préalables.

C'est le cas pour la détection d'un facteur génétique dans la région HLA comme facteur de prédisposition à la polyarthrite rhumatoïde (PR), une maladie auto-immune touchant 1 % de la population générale. Ce facteur génétique est présent chez 70 % des personnes atteintes de PR et chez 40 % des personnes de la population générale. Rechercher cet allèle dans la population générale ne présente pas d'intérêt, en raison de la fréquence élevée des personnes qui le portent et qui ne développeront jamais de PR. Même chez une personne asymptomatique dont l'un des parents est atteint, la détection de cet allèle a peu de valeur prédictive. En effet, pour la fille d'une mère atteinte, le risque global de développer une PR est de 4 % et il n'atteint que 5 % si cette personne est de surcroît porteuse de la prédisposition génétique. Dans la majorité des cas, le test génétique risque donc d'inquiéter la personne inutilement. Il n'est justifié que dans une seule situation : lorsqu'une personne se présente avec des signes d'appel de la PR. Le risque de développer la maladie pour cette personne est de 25 % et si elle est en même temps porteuse du facteur génétique, ce risque atteint 40 %. Néanmoins, même dans cette situation, le patient est inquiété inutilement dans les 60 % de cas où il ne développera pas

la maladie. Dans ce domaine, le respect des bonnes pratiques est donc indispensable et il revient au clinicien d'agir avec discernement.

2. Formes génétiquement déterminées de maladies multifactorielles

En revanche, le diagnostic génétique est justifié pour certaines formes héréditaires de maladies phénotypiquement proches. Ainsi, des gènes à transmission mendélienne, responsables de formes rares des hypertensions artérielles (HTA) (dont l'incidence dans la population générale est de 1 sur 10 000 à 1 sur 1 000 000), ont été identifiés au cours des 10 dernières années. C'est le cas du syndrome de Liddle, qui associe une HTA et un déficit en potassium. Ce syndrome peut être traité par un médicament peu coûteux. Seules une centaine de familles sont concernées en France par cette forme d'HTA, mais le diagnostic génétique de la mutation qui en est responsable permet de traiter tous les sujets qui la portent à l'intérieur d'une même famille, et apporte donc un important bénéfice médical. Les retombées de la recherche génétique sont moindres pour les formes plus communes d'HTA. Dans la population générale, l'incidence des HTA est de 10 à 30 %, et on estime que 30 % de la variance de la pression artérielle est liée à une composante génétique. En connaissant mieux les génotypes en cause, on peut espérer non seulement améliorer le diagnostic, mais aussi prédire la réponse au traitement. Ainsi, le gène de l' α -adducine présente une importante diversité allélique. Suivant les allèles, la réponse au traitement varie, ce qui permet d'envisager différents traitements en fonction des génotypes des patients.

Plusieurs formes monogéniques de diabète de type 2 à survenue précoce (MODY) ont été mises en évidence, dont 5 sont bien caractérisées : MODY1, MODY2, MODY3, MODY4 et MODY5. En France, MODY2 et MODY3 sont les formes les plus fréquentes, responsables respectivement de 50 % et de 25 % des cas de MODY et leur diagnostic génétique est réalisé en routine. Ces deux formes sont à transmission autosomique dominante, et ont une pénétrance élevée, voire totale dans le cas du MODY3. Leur dépistage génétique permet de prévenir les complications par une prise en charge précoce, et de repérer les sujets porteurs des gènes mutés à l'intérieur des familles. Le diabète MODY2 se caractérise par une hyperglycémie modérée, avec un taux de complications assez faible. Avant l'âge de 13 ans, 90 % des enfants ont une hyperglycémie, d'où l'intérêt d'un diagnostic génétique précoce. Le diabète MODY3 est insulino-dépendant, avec des complications sévères. Il est de ce fait souvent confondu avec le diabète de type 1.

Grâce au diagnostic génétique, il est possible de le différencier d'un diabète de type 1, et donc d'éviter une prise en charge inadaptée.

On connaît également des formes monogéniques d'obésité. Ainsi, des obésités à caractère récessif ont été identifiées, résultant de mutations dans le gène de la leptine (OB) et de son récepteur (OB-R), dans le gène de la pro-opiomélanocortine (POMC) et de la proconvertase I (PCI). Il s'agit de formes rares dont le diagnostic n'est indiqué qu'à partir d'un cas index familial. Des formes autosomiques dominantes ont par ailleurs été associées à des mutations du gène MC4R, qui seraient présentes chez 4 % des obèses en France d'après une étude récente, soit 12 000 sujets. Toutefois, le dépistage de ces mutations ne présente pas encore d'intérêt médical. Le phénotype des sujets qui les portent est peu différent de celui des autres sujets obèses d'un point de vue clinique, et les mutations ne sont pas encore toutes répertoriées.

• Diagnostic génétique en cancérologie

Dans le cas des cancers, mises à part les prédispositions héréditaires (Voir « Diagnostic génétique chez l'adulte asymptomatique »), les anomalies génétiques concernent une population de cellules à l'intérieur de l'organisme. Il s'agit alors de génétique somatique. Comment ces anomalies apparaissent-elles ? Au cours de sa réplication, l'ADN peut subir des altérations qui sont le plus souvent réparées par des enzymes possédant une fonction correctrice. Il arrive cependant que ces altérations ne soient pas réparées, ou ne soient pas réparables. Dans certains cas, la cellule acquiert de nouvelles fonctions pouvant conduire à la cancérisation. L'étude des anomalies génétiques présente un intérêt majeur en hématologie et dans certains cancers, en particulier les cancers pédiatriques. Elle contribue au diagnostic, mais peut aussi permettre d'évaluer le pronostic et de définir la stratégie thérapeutique. C'est le cas pour les neuroblastomes. Par l'analyse génétique, on peut différencier le neuroblastome de type I (survenant chez l'enfant jeune et de bon pronostic) du neuroblastome de type II et du neuroblastome de type III (survenant chez l'enfant plus âgé que le type I et de mauvais pronostic).

L'outil classique d'étude en génétique somatique est la cytogénétique qui permet une approche globale et qui implique *de facto* l'examen des caractéristiques génétiques du malade. Son pouvoir résolutif est toutefois faible (de l'ordre de quelques mégabases) et elle ne se fait que sur des cellules en division, minoritaires au sein des échantillons tissulaires.

L'hybridation *in situ* fluorescente (FISH) qui est une technique plus récente permet des résolutions inférieures à 100 kb et est applicable aux noyaux interphasiques. Enfin, on dispose aussi d'une autre technique, l'hybridation *in situ* comparative (CGH) qui consiste à comparer l'ADN à tester avec un ADN contrôle et permet ainsi d'objectiver de nombreuses anomalies quantitatives. Sa résolution reste toutefois insuffisante (10 Mb) et des améliorations sont nécessaires. Ainsi, des micropuces d'ADN utilisant cette technique sont en cours de développement.

La génétique somatique se particularise par la nécessité de tissus pathologiques, disponibles en quantité limitée, et prélevés dans le cadre de procédures diagnostiques. Ces prélèvements particulièrement précieux ont valeur de document source et sont sous la responsabilité du médecin qui les a effectués. Leur traitement est délicat car la chaîne du froid doit être respectée, ce qui implique un transport compliqué et coûteux. Les compétences médicales existent dans tous les centres hospitaliers. Toutefois, en l'absence de nomenclature pour la prise en charge et la conservation de ces tissus, l'exérèse est faite dans 50 % des cas dans des structures où il n'existe pas de circuit de congélation organisé. C'est pourquoi les pathologistes, les cancérologues et les hématologistes ont saisi ensemble les instances ministérielles pour demander la mise en place d'une nomenclature et structurer le circuit de traitement des prélèvements. Pour être utilisés à des fins de recherche, ces prélèvements doivent être soumis au consentement écrit du malade sauf si celui-ci est décédé ce qui est souvent le cas en cancérologie.

Le diagnostic génétique présymptomatique

• Pourquoi demander un diagnostic génétique présymptomatique ?

Le diagnostic présymptomatique concerne en général des pathologies de révélation tardive dans lesquelles l'analyse moléculaire permet de déterminer si une personne à risque mais encore asymptomatique, est porteuse de l'anomalie génétique responsable de la maladie. Dans le cas le plus fréquent, une personne asymptomatique apparentée à une personne déjà atteinte d'une maladie à transmission autosomique dominante se présente pour être informée sur son risque d'avoir cette maladie et de la transmettre. On réalise aussi souvent un diagnostic présymptomatique dans le cadre d'une étude en cascade à partir d'un cas index.

Le diagnostic génétique présymptomatique présente un intérêt médical évident quand des mesures préventives efficaces existent. C'est le cas pour le rétinoblastome, qu'un traitement prophylactique prévient dans 100 % des cas. Pour d'autres maladies, il répond uniquement à la volonté du patient de se savoir porteur ou non de la mutation délétère. Ce type de diagnostic ne peut être fait que chez des adultes « éclairés » sur les enjeux du test, et nécessite un encadrement psychologique. C'est le cas du test présymptomatique de la maladie de Huntington. Entre ces deux extrêmes, pour la plupart des maladies, le test génétique apporte un bénéfice médical intermédiaire : un traitement préventif existe, mais n'est pas efficace à 100 % ou prévient seulement une partie des symptômes de la maladie.

• Diagnostic génétique chez l'adulte asymptomatique

Le diagnostic génétique présente un intérêt médical important pour certains cancers et certaines maladies cardiaques.

1. Prédispositions génétiques aux cancers du sein et de l'ovaire

Certains cancers du sein et de l'ovaire sont liés à la présence de mutations dans les gènes BRCA1 et BRCA2. Elles confèrent aux femmes qui les portent un risque de cancer du sein et de l'ovaire dès l'âge de 30 ans. À l'âge de 70 ans, le risque cumulé est de 60 à 80 % suivant les études épidémiologiques. Une expertise sur

la prescription et la réalisation de ces tests menée entre 1995 et 1998 par l'Inserm en partenariat avec la Fédération nationale des centres de lutte contre le cancer (FNCLCC), a permis de formuler des recommandations pour la prise en charge des femmes porteuses des mutations dans les gènes BRCA1 et BRCA2. Chez ces femmes, le risque de décès par cancer du sein est de 30 à 40 %. La surveillance radiologique (mammographie bisannuelle dès l'âge de 20 ans), abaisse ce risque à 21-28 %, tandis que la chirurgie (mammectomie) l'abaisse à 3-4 %. De même le risque de décès par cancer de l'ovaire est de 16 à 44 % sans surveillance radiologique, de 8 à 22 % avec surveillance et de 1,3 à 3,5 % après chirurgie (ovariectomie). Généralement, le dépistage des mutations BRCA-1 et BRCA-2 se fait dans les familles à risque, après identification d'un cas index. Les recommandations pour les femmes porteuses de la prédisposition génétique consistent en examens radiologiques réguliers des seins et de l'ovaire. Une mammectomie est également proposée à ces femmes à partir de l'âge de 30 ans, ainsi qu'une ovariectomie (à partir d'un âge variant suivant la mutation portée). Pour ces mesures préventives qui comportent un caractère mutilant, l'encadrement psychologique est important et des équipes pluridisciplinaires se structurent dans les services d'oncogénétique. On explore aussi d'autres approches préventives, en recherchant notamment des facteurs protecteurs (environnementaux, génétiques) chez les femmes qui ne développent pas de cancers du sein ou de l'ovaire malgré leurs prédispositions génétiques. Comprendre pourquoi ces femmes sont protégées donnerait peut-être accès à des mesures préventives efficaces moins agressives que la chirurgie.

2. Tests génétiques en cardiologie

Le diagnostic génétique permet également de prévenir la mort subite associée au syndrome du QT long (dénommé ainsi du fait de l'allongement de l'onde T sur l'électrocardiogramme), pour lequel cinq gènes ont été identifiés. Une mort subite survient chez 12 à 13 % des patients atteints de ce syndrome et peut être prévenue par l'administration de β -bloquants. L'analyse génétique apporte deux informations essentielles pour le diagnostic de cette maladie. Elle permet d'identifier les patients ayant des formes frustes non détectées à l'électrocardiogramme (en raison de la variation importante de l'onde T chez les sujets normaux) et exposés au même risque de mort subite que les patients symptomatiques. Grâce aux corrélations établies entre génotype et phénotype, le résultat du test génétique permet par ailleurs de prédire le facteur déclen-

chant de la mort subite : effort (en particulier natation) chez les sujets LQT1, bruit chez les sujets LQT2 ou sommeil chez les sujets LQT3. Il est ainsi possible d'orienter les recommandations faites aux patients sur la pratique de ces activités, en fonction de leur génotype. Enfin, le diagnostic génétique permet de réaliser une enquête familiale à partir d'un cas index, même si celle-ci est encore trop souvent omise. Les connaissances sont moins avancées pour d'autres cardiopathies rythmiques, pour lesquelles seul le locus est connu. C'est le cas pour les dysplasies arythmogènes du ventricule droit qui représentent la principale cause de mort subite du sujet jeune et pour lesquelles 6 loci ont été identifiés.

Des prédispositions génétiques ont également été associées à la cardiomyopathie hypertrophique. Cette atteinte du myocarde, dont la prévalence est évaluée à 1/500, est caractérisée par une hypertrophie asymétrique du ventricule gauche. Ses symptômes sont habituellement peu invalidants (essoufflement modéré à l'effort, palpitations, douleurs thoraciques, plus rarement perte de connaissance), mais elle comporte un risque de mort subite, souvent en relation avec une tachyarythmie ventriculaire. Dans 60 % des cas, la maladie est familiale avec une transmission autosomique dominante à pénétrance incomplète. Des mutations à l'intérieur de plusieurs gènes ont été associées à cette pathologie, sans que des corrélations entre génotype et phénotype n'aient pu être établies. Quelle est la place de l'outil génétique ? Qu'il soit demandé dans le cadre d'un diagnostic prénatal ou par une personne apparentée à un cas index, le diagnostic génétique doit être discuté. Le diagnostic prénatal peut se justifier dans les familles où de nombreuses morts subites sont survenues. Il s'agit cependant d'une maladie à révélation tardive et à pénétrance et expressivité variable. Il est donc difficile de prévoir l'impact de la mutation sur la maladie et donc d'orienter le conseil génétique. L'intérêt médical du diagnostic génétique est également limité chez un sujet asymptomatique car l'évolution de la maladie est mal connue, et qu'il n'existe pas de traitement préventif. Le risque de retentissement psychologique négatif est donc important pour la personne testée positive, et ce type de diagnostic doit être encadré par une équipe pluridisciplinaire.

3. Syndrome de Marfan

Pour d'autres maladies, les connaissances génétiques sont encore parcellaires, et l'apport du diagnostic génétique est limité. C'est le cas pour le syndrome de Marfan (MFS) dont le diagnostic clinique est difficile et nécessite

l'intervention de différents spécialistes. Dans sa forme classique chez l'adulte, ce syndrome se caractérise par l'atteinte de plusieurs systèmes, essentiellement squelettique, oculaire et cardio-vasculaire. Des atteintes de la peau et des ligaments, des poumons et du système nerveux central sont également possibles. En dehors de sa forme classique, le MFS peut se traduire par une grande hétérogénéité de formes cliniques, qui sont des formes incomplètes ou frustes associant plus ou moins les différentes atteintes de la forme classique. La forme clinique du MFS est variable d'une famille à l'autre, mais également à l'intérieur d'une même famille. Dans la majorité des cas, le MFS est dû à des mutations du gène codant pour la fibrille 1 (gène FBN1). Plus de 300 mutations ont été identifiées. Même si certaines d'entre elles sont associées à certaines formes de MFS, les corrélations entre phénotype et génotype ne sont pas clairement établies. Qu'apporte l'analyse génétique au diagnostic de cette maladie ? À côté du tableau clinique, il peut faciliter le diagnostic précoce, essentiel à la mise en place d'un traitement préventif des complications sévères du MFS (en particulier cardio-vasculaires). Il n'informe toutefois pas sur l'évolutivité de la maladie, ni sur sa gravité.

• Le diagnostic génétique chez le mineur asymptomatique

Le décret du 23 juin 2000 précise que « *les examens ne peuvent être prescrits chez un mineur que si ce dernier ou sa famille peuvent personnellement bénéficier de mesures préventives ou curatives immédiates* ».

Dans quelles limites le diagnostic génétique est-il justifié chez le mineur asymptomatique ? L'intérêt de ce diagnostic peut être direct pour le mineur lorsqu'il lui donne accès à des mesures préventives efficaces ou indirect lorsqu'il est réalisé dans le cadre d'une enquête familiale.

L'exemple des cancers colorectaux héréditaires illustre bien la façon dont le diagnostic génétique peut directement profiter au mineur asymptomatique. Les cancers colorectaux sont responsables d'environ 10 % des décès dans les pays industrialisés et 5 % d'entre eux surviennent dans un contexte de maladie héréditaire. C'est le cas pour la polypose adénomateuse familiale (PAF) et le cancer héréditaire colorectal sans polypose (syndrome HPC). Les gènes associés à ces deux formes de cancers colorectaux confèrent aux personnes qui les portent un risque de développer un cancer du colon supérieur à 90 %. À partir d'un cas index dans une famille, le diagnostic génétique des apparentés permet d'entreprendre une surveillance par coloscopie, y compris chez le mineur. Dans le

cas du PAF, une coloscopie annuelle dès l'âge de 11 ans permet de diminuer le risque de cancer colorectal d'un facteur 8. Ce risque est diminué d'un facteur 2 dans le cas de la HNPCC, avec une coloscopie tous les deux ans dès l'âge de 20 ans. Le diagnostic peut aussi être directement bénéfique au mineur en permettant de définir une orientation socio-professionnelle adaptée à la future pathologie. C'est le cas pour certaines maladies neuro-musculaires, comme la dystrophie myotonique de Steinert.

Lorsqu'il est réalisé dans le cadre d'une enquête familiale, le diagnostic présymptomatique ne profite pas forcément à l'enfant. Plusieurs questions éthiques se posent alors. Tout d'abord, l'intérêt de la famille prime sur celui de l'enfant qui est privé de son droit de ne pas savoir, mis en avant par la législation. Les répercussions psychologiques peuvent être graves sur le mineur et l'anticipation de la maladie peut perturber la relation entre parents et enfants. L'avis du mineur doit être recueilli conformément aux dispositions introduites par la loi Huriet et plus particulièrement dans le cadre d'enquêtes familiales ou du diagnostic présymptomatique d'une maladie potentiellement grave. À quel moment de sa vie le mineur doit-il être informé ? Pour les maladies à révélation tardive (cancer du sein, Huntington...), les médecins s'accordent pour interdire le diagnostic présymptomatique chez le mineur. De même, le diagnostic génétique d'un caractère hétérozygote de transmission récessive (autosomique ou sur le chromosome X pour les filles conductrices) ne doit pas être envisagé avant la majorité ou l'âge de procréer et après une consultation de génétique médicale car l'intérêt est uniquement pour la descendance du mineur. Pourtant, les associations de malades ont parfois un point de vue divergent. L'Alliance « maladies Rares » insiste par exemple sur l'importance du diagnostic précoce chez les filles porteuses de l'X fragile, revendiquant ainsi le droit à connaître la réalité et à anticiper sans prédire. Pour 2001, l'Alliance Maladies Rares a fait de la recherche et de l'accès aux soins une de ses priorités, en la définissant comme « *l'action de promouvoir le diagnostic, de promouvoir les bonnes pratiques d'annonce du diagnostic et de favoriser le développement et l'accès aux médicaments pour les maladies rares* ». Les médecins sont par ailleurs de plus en plus sollicités par les malades à la réalisation de tests génétiques dont le bien-fondé n'est pas forcément évident. En diagnostic prénatal et en diagnostic préimplantatoire, les demandes correspondent souvent à des situations complexes et peuvent parfois concerner des maladies à révélation tardive. Il n'existe pas de réponse défini-

tive pour justifier ou non le diagnostic prénatal ou préimplantatoire de telle ou telle maladie et on ne peut pas édicter de règles générales. C'est au médecin de prendre le temps de connaître le patient pour comprendre le sens de sa demande et éventuellement l'en dissuader.

Dans la pratique médicale, il existe des situations où le diagnostic génétique est fait fortuitement sans impliquer d'analyses moléculaires. C'est le cas pour la polykystose rénale autosomique dominante. Cette maladie se révèle tardivement (l'âge moyen de début de dialyse est 55 ans), mais peut être diagnostiquée très précocement puisque les kystes apparaissent parfois dès la vie fœtale. S'il peut être justifié chez l'adulte asymptomatique (prévention de l'hypertension artérielle et l'anévrisme intracrânien dans les familles présentant des antécédents), le diagnostic de cette maladie ne présente aucun intérêt durant l'enfance. Il est pourtant souvent fait par le radiologue au cours d'échographies fœtales ou lors d'examen échographiques banals chez le mineur. Le généticien n'est donc pas le seul médecin concerné par le diagnostic précoce d'une maladie génétique, et les autres partenaires, en l'occurrence le radiologue, doivent aussi être sensibilisés aux enjeux éthiques d'un tel diagnostic.

• **Le rôle de l'équipe pluridisciplinaire**
Chez le sujet asymptomatique, le diagnostic génétique ne peut être prescrit que par un médecin intégré à une équipe pluridisciplinaire. En quoi consiste cette équipe pluridisciplinaire ? Qu'apporte t-elle ?

C'est pour le diagnostic présymptomatique de la maladie Huntington que les premières équipes pluridisciplinaires se sont mises en place. Il s'agit d'une maladie neurodégénérative autosomique dominante, qui se déclare en moyenne entre 30 et 45 ans, et qui évolue vers le décès 10 à 15 ans après le début des signes cliniques. Il n'existe actuellement aucun traitement préventif contre cette maladie. C'est la première maladie génétique grave de l'adulte pour laquelle un diagnostic génétique présymptomatique a été possible. Dès la localisation du gène en 1983, neurologues et associations de patients telles que l'IHA (International Huntington Association), se sont concertés pour réfléchir aux conditions de réalisation de ce diagnostic. Un guide de recommandations est issu de cette concertation. Les principes de l'encadrement du candidat y sont formulés : information la plus précise possible sur le test et ses conséquences afin de permettre au candidat un choix éclairé, respect du droit de ne pas savoir.

En France, le plus grand centre de diagnostic présymptomatique de la maladie de Huntington se situe à l'hôpital de la Salpêtrière (Paris) où 500 demandes ont été prises en charge depuis 1992. Il existe également en Province, une quinzaine de centres pluridisciplinaires assurant ce diagnostic dans les conditions des recommandations internationales. La prise en charge du diagnostic repose sur deux principes : la pluridisciplinarité de l'équipe, et la durée. La diversité des spécialités représentées au sein de l'équipe (généticien, neurologue, psychologue, assistante sociale, infirmière de génétique) permet de prendre en compte la spécificité de chaque demande, en relation avec une histoire particulière du vécu de la maladie. Six mois en moyenne séparent le premier contact de la réalisation du test. Durant ce délai de réflexion, au moins trois entretiens sont proposés au candidat : une consultation avec le psychologue, une avec l'assistante sociale et une avec le généticien. Le candidat peut ainsi éprouver sa motivation de se savoir ou non porteur de la mutation, et éventuellement abandonner sa démarche. En effet, 41 % des personnes décident de ne pas faire le test après le premier entretien, et 6 % au cours des entretiens suivants. Des proportions similaires sont rencontrées pour le test présymptomatique d'autres pathologies neurologiques (dystrophie myotonique de Steinert, dystrophie musculaire facio-scapulo humérale, ataxies dominantes), considérées comme moins sévères que la maladie de Huntington. Sans ce délai et l'encadrement par l'équipe pluridisciplinaire, les personnes qui abandonnent se retrouveraient en possession d'un savoir qu'elles n'ont pas vraiment désiré. C'est pourquoi, le « droit de ne pas savoir » doit être respecté et le patient peut abandonner sa démarche à tout moment, y compris au moment de la remise du résultat du test. Cette approche favorise aussi le travail d'anticipation qui aidera le patient à se projeter dans l'avenir et à ne pas rester figé sur la prédiction au cas où le test s'avérerait défavorable. Dans toute prédiction, il y a en effet télescopage du temps : l'avenir étant connu, il se confond avec le présent, ce qui peut bloquer la personne dans ses projets de vie. Un accompagnement est également proposé au sujet avec un des spécialistes de son choix, après la remise du résultat. L'impact de ce résultat varie beaucoup d'un sujet à l'autre. Alors qu'il en déstabilise certains, il en libère d'autres d'un doute perpétuel sur le risque.

Avec le développement du diagnostic présymptomatique, des équipes pluridisciplinaires se mettent en place pour d'autres maladies, en particulier en oncogénétique, en dermatologie et en cardiologie. Ainsi, une réflexion approfondie a été menée au sein du Réseau français d'étude des cardiomyopathies hypertro-

phiques familiales pour structurer le conseil génétique spécifique à ces maladies. La première consultation multidisciplinaire de conseil génétique pour les Cardiomyopathies Hypertrophiques (entretiens successifs avec un cardiologue, un généticien clinicien et un psychologue) a ainsi vu le jour en 1999 dans le CHU de la Pitié-Salpêtrière à Paris.

Le dépistage génétique

• Le succès du dépistage de la phénylcétonurie

La phénylcétonurie est la première maladie ayant bénéficié d'un diagnostic néonatal en France. Il s'agit d'une maladie héréditaire du métabolisme⁷ de transmission autosomique récessive survenant avec une fréquence d'environ 1/15 000 naissances. Chez l'enfant non traité, cette maladie se traduit par une encéphalopathie progressive sévère durant la période de maturation cérébrale (entre 5 et 10 ans), qui aboutit à un retard mental. Depuis la mise en place du dépistage néonatal systématique en 1973, 24 millions d'enfants ont été testés et 7 000 enfants repérés. Les enfants phénylcétonuriques bénéficient d'un traitement préventif reposant sur un régime pauvre en protéines, en particulier en phénylalanine. Ce régime efficace est libéré progressivement à partir de l'âge de 10 ans chez les garçons. Il est réduit chez les filles, mais partiellement maintenu. Durant une grossesse chez une femme phénylcétonurique, un régime restrictif est en effet nécessaire pour prévenir les embryofœtopathies dues à l'hyperphénylalaninémie, et ce régime restrictif est plus facile à reprendre lorsque l'apport en phénylalanine est toujours resté contrôlé.

Sur quoi repose le succès du dépistage de la phénylcétonurie ? Un tel programme ne peut fonctionner qu'avec un réseau de professionnels motivés bénéficiant de la confiance des parents et soutenu par un financement solide en l'occurrence celui de la CNAMTS. C'est grâce à ce type de financement que le dépistage prénatal a pu par la suite être élargi à d'autres maladies au fur et à mesure de l'évolution des connaissances. Il englobe actuellement l'hypothyroïdie, l'hyperplasie des surrénales et la drépanocytose (chez les enfants d'origine antillaise et africaine). Comme pour la phénylcétonurie, le dépistage de masse est justifié pour ces maladies. Il s'agit de maladies suffisamment fréquentes dans la population générale (incidence > 1/15 000 naissances), sévères en période post-natale, et pouvant être prévenues par un traitement efficace lorsque leur dépistage est précoce. Il apporte donc un bénéfice individuel au patient. Ce dépistage est réalisé par des tests simples et bon marché. Le test de Guthrie, qui permet de dépister la phénylcétonurie, l'hypothyroïdie et l'hyperplasie des surrénales coûtait 35,20 francs par enfant en 2000.

• Autres projets de dépistage en France

Un dépistage néonatal systématique de la **mucoviscidose** est expérimenté depuis 1989 en Bretagne et en Normandie, dans le cadre d'un programme pilote. En France, un enfant sur 2 500 est atteint de la mucoviscidose, une maladie autosomique récessive qui se traduit par une atteinte des glandes exocrines. L'accumulation de mucus au niveau respiratoire est responsable d'infections pulmonaires, et évolue vers l'insuffisance respiratoire terminale. La mucoviscidose est due à des mutations du gène CFRT cloné il y a 10 ans. Plus de 1 000 mutations ont été identifiées dans ce gène dont celle en position 508 est retrouvée dans 70 à 80 % des cas. La recherche des sujets homozygotes pour cette mutation permet d'effectuer le diagnostic dans le cadre d'un dépistage prénatal ou néonatal. La stratégie repose sur le dosage de la trypsine immuno-réactive (TIR) suivi si nécessaire par la recherche de mutations du gène CFTR. Un enfant sur 3 000 est ainsi dépisté à la naissance. Jusqu'à présent, 118 enfants ont été dépistés dans le cadre de ce programme pilote et le génotypage a pu être effectué chez 117 d'entre eux. La mutation en position 508 est retrouvée sur 70,5 % des 234 chromosomes ainsi analysés, et six autres mutations ont une fréquence supérieure à 1 % : N1303K (3 %) ; 1078delT (3 %) ; G551D (3 %) ; G542X (1,7 %) ; R117H (1,7 %) et 3272-26 A/G (1,3 %). Parmi ces enfants, 107 sont symptomatiques et sont suivis médicalement et 5, porteurs de mutations rares, sont asymptomatiques. Le dépistage d'un enfant donne de plus lieu à un dépistage en cascade dans la famille. Il n'existe pas actuellement de traitement préventif contre la mucoviscidose, mais le suivi médical comporte un bénéfice potentiel pour l'enfant. Les résultats de plusieurs études suggèrent que les enfants dépistés et pris en charge à la naissance ont une qualité de vie meilleure que les enfants non dépistés, que leur espérance de vie est plus longue, et que la morbidité et la durée des séjours d'hospitalisation est plus faible. Toutefois, le véritable bénéfice d'une telle expérience ne pourra être évalué que dans plusieurs décennies, en mesurant l'espérance de vie des enfants ainsi pris en charge. Bien que discutée, cette expérience pilote va être étendue à toute la France.

Des études sont également menées pour évaluer l'intérêt du dépistage de l'**hémochromatose** qui est une maladie fréquente, potentiellement

⁷ La phénylcétonurie ou hyperphénylalaninémie résulte d'un déficit génétique en phénylalanine hydroxylase, une enzyme qui métabolise la phénylalanine.

grave et facilement prévenue. Elle est transmise sur un mode autosomique récessif et se traduit par une surcharge massive de l'organisme en fer. Elle évolue à bas bruit et ne devient symptomatique qu'après 40 ans. La complication la plus sévère est la cirrhose évoluant dans un tiers des cas en cancer du foie et pouvant être prévenue par des saignées hebdomadaires. Au moins 1 personne d'origine Nord-Européenne sur mille est touchée par cette maladie. Depuis 1996, on sait qu'elle résulte de mutations dans le gène HFE. Parmi les nombreuses mutations identifiées dans ce gène, l'une d'entre elle (C282Y) est retrouvée à l'état homozygote dans 85 % des cas en moyenne. D'après une enquête réalisée en Bretagne, 18 % des personnes sont hétérozygotes pour la mutation C282Y, et 6,2 pour mille sont homozygotes. La pénétrance de la mutation n'est cependant pas connue et semble incomplète. En l'état actuel des connaissances, le dépistage génétique de l'hémochromatose concerne les personnes à risque identifiées suivant des critères cliniques ou biologiques.

• L'hétérogénéité du dépistage génétique en Europe

Une étude menée en 1999 auprès de 170 professionnels de 15 pays par la Société européenne de génétique humaine a permis de faire un bilan des différentes pratiques de dépistage génétique pratiquées en Europe. Pour qu'un programme de dépistage soit justifié, il faut que son bénéfice excède de beaucoup ses inconvénients, en particulier son retentissement psychologique. Ce dépistage doit directement profiter à la personne testée et non à un tiers ou à la société. À l'heure actuelle, aucun dépistage ne fait l'objet d'un consensus en dehors du dépistage néonatal de la phénylcétonurie et de l'hypothyroïdie.

En Europe, les programmes de dépistage sont très hétérogènes. Plusieurs programmes sont en cours qu'il s'agisse de dépistage néonatal, prénatal, préconceptionnel chez l'adulte ou en cascade à partir d'un cas index. Ce sont pour la plupart des programmes pilotes ou réservés à des sous-populations à haut risque⁸. Outre la phénylcétonurie et l'hypothyroïdie dépistées dans presque tous les pays, d'autres maladies font l'objet d'un dépistage néonatal dans certains pays. Il s'agit par exemple de la galactosémie (Allemagne, Belgique, Italie, Suède) et de la mucoviscidose (France). En période prénatale, la trisomie 21 est dépistée dans plusieurs pays d'Europe, selon des méthodes variées (recherche de marqueurs sériques et clarté nucale, clarté nucale seule, marqueurs sériques seuls ou ni l'un ni l'autre). D'autres maladies sont détectées dans certains pays, comme l'X fragile en Italie

par exemple. À côté de ces programmes nationaux, d'autres maladies font l'objet de dépistage régional ou d'études pilotes. C'est par exemple le cas de la myopathie de Duchenne en période néonatale (Belgique, Italie, Grande-Bretagne) ou de l'X fragile en période prénatale (Finlande, Italie), et éventuellement en période préconceptionnelle (Finlande). Plusieurs programmes régionaux ou pilotes sont également en cours chez l'adulte, comme le facteur V Leiden (Finlande).

⁸ Site internet : <http://www.eshg.org>

La pratique des tests génétiques

• De la recherche à la pratique quotidienne

1. Le développement des tests génétiques en France : aperçu historique

Avant 1975 les tests génétiques étaient impossibles à faire. Le développement du test d'analyse de l'ADN par southern blotting au milieu des années 1975 n'a pas vraiment modifié cette situation. Il s'agit en effet d'un test peu informatif et ne pouvant pas être développé en routine. Il faut attendre le début des années 1990 et l'irruption de la PCR (*polymerase chain reaction*) pour que de nouveaux liens se créent entre équipes cliniques et laboratoires de biologie moléculaire. C'est ainsi que les premières connaissances fondamentales sur les corrélations entre génotypes et phénotypes et sur la mise en évidence de l'hétérogénéité génétique de certaines pathologies ont été acquises.

La réalisation des tests génétiques au sein des laboratoires de recherche ne pouvait toutefois pas perdurer. L'activité de recherche n'est en effet pas compatible avec les procédures d'assurance qualité auxquelles doit répondre l'activité d'analyse médicale. Les lois de bioéthique de 1994 puis le décret du 23 juin 2000 ont défini un nouveau cadre pour l'exercice de ces deux activités, au sein des laboratoires de recherche d'une part, et des laboratoires d'analyses médicales d'autre part. La caractérisation des mutations s'inscrit dans l'activité des laboratoires d'analyses médicales qui doivent également suivre l'évolution des techniques, voire en être le moteur. Certaines activités devraient également y être développées telles que la recherche de corrélations entre phénotypes et génotypes. Par ailleurs, les laboratoires de recherche ont pour rôle de développer des tests fonctionnels pour augmenter la valeur informative des analyses génétiques et améliorer la compréhension des mécanismes pathologiques, ce qui ouvrirait de nouvelles pistes de recherche en thérapie génique.

Ainsi, une relation à trois partenaires s'est mise en place entre cliniciens, laboratoires de recherche et laboratoires de diagnostic. Au sein de cette relation, émerge un quatrième partenaire : l'industrie pharmaceutique. L'acquisition de brevets sur des séquences d'ADN confère à son détenteur, pour une période limitée, le monopole exclusif de leur utilisation à des fins commerciales. En France,

tant que les tests génétiques n'étaient pas clairement identifiés comme une activité de diagnostic médical, ces droits d'exclusivité ne s'appliquaient pas. Avec le décret du 23 juin 2000, ils tombent sous le droit des brevets. Un scénario catastrophique des dérives abusives de la détention de brevets sur les séquences d'ADN est illustré par le cas de la société Myriad. Cette société, qui détient les brevets sur les gènes BRCA1 et BRCA2, a développé deux stratégies pour étendre son monopole : la réalisation des tests génétiques au sein de son laboratoire de Salt Lake City, et l'identification, au sein de chaque pays d'un laboratoire unique détenant la licence d'utilisation de ces tests. Ainsi, aux États-Unis, toute recherche d'une nouvelle mutation dans les gènes BRCA1 ou BRCA2 doit être effectuée au sein du laboratoire de Salt Lake City. Myriad a également conclu des accords avec des laboratoires dans 4 pays : le Japon, les États-Unis, la Grande-Bretagne et l'Irlande. Si Myriad s'implantait en France, le coût de son test s'élèverait à environ 17 000 francs contre 4 500 à 6 000 francs pour les tests réalisés par des laboratoires hospitaliers.

2. L'organisation en réseaux

Il est nécessaire de réorganiser la pratique globale des tests génétiques. Actuellement, l'offre est pléthorique pour certaines maladies tandis que d'autres ne sont pas prises en charge, ce qui rend les malades inégaux face à l'accès au diagnostic et aux soins. Par ailleurs, les techniques utilisées et les mutations recherchées varient beaucoup suivant les laboratoires, comme c'est le cas pour le diagnostic de la mucoviscidose. Enfin, l'équipement des laboratoires est très en retard, les crédits hospitaliers étant souvent affectés à d'autres priorités que le diagnostic génétique.

Afin de faire face à cette situation, les professionnels du diagnostic génétique se sont regroupés pour former l'association nationale des praticiens de génétique moléculaire (ANPGM). Dans son livre blanc, l'ANPGM dresse le bilan de la situation actuelle et propose des solutions. On distingue deux types d'activités au sein de la pratique du diagnostic génétique : une activité correspondant aux tests simples à gros débit utilisant des technologies peu évolutives à moyen terme, et une activité correspondant à des tests complexes pratiqués pour des maladies rares utilisant des technologies très évolutives. L'ANPGM propose deux approches différentes pour ces deux activités. Pour les tests simples, l'ANPGM propose de mettre en place une nomenclature équitable et adaptable, afin que tous les laboratoires qui le souhaitent puissent réaliser ces tests. Pour les tests complexes, l'ANPGM propose une nouvelle organisation en réseaux nationaux, regroupant les tests suivant les spécialités : réseau des maladies neurologiques et musculaires, réseau

des maladies métaboliques... Pour qu'un réseau soit mis en place, il devra proposer un schéma d'organisation et de bonnes pratiques évalué par un groupe d'experts. En fonction de l'avis de ce groupe d'experts, le réseau bénéficiera des moyens matériels, attribués de manière contractuelle. Chaque réseau sera organisé autour d'un laboratoire de référence assurant la veille technologique, la fourniture de matériel et la formation auprès des autres laboratoires. Pour être éligible à ce titre, un laboratoire devra justifier de compétences reconnues et d'une activité importante dans le domaine considéré.

Ce projet a été globalement accepté par la Direction de l'hospitalisation et de l'organisation des soins récemment créée au sein du ministère de la Santé et une expérience pilote sera mise en place au cours de l'année 2001. L'organisation en réseau permettra également d'optimiser les coûts et le travail. Deux réseaux ont déjà été créés : un réseau sur les maladies neuro-musculaires, et un réseau sur la mucoviscidose. En parallèle, la Direction de l'hospitalisation et de l'organisation des soins a prévu d'augmenter le nombre de postes de praticiens hospitaliers spécialisés en génétique humaine. Depuis 1997, 140 postes ont été créés.

• Le contrôle qualité

Le réseau ENQM⁹ (*european molecular biology quality network*) propose chaque année la mise en place de contrôles de qualité externe, visant à évaluer les actes de génotypage réalisés en Europe pour les pathologies les plus fréquentes.

Les performances des laboratoires spécialistes d'une pathologie donnée sont évaluées à la fois d'après le résultat du génotypage et d'après le rendu des résultats des tests génétiques. Les tests sont effectués à partir d'échantillons d'ADN préparés dans le cadre d'une demande familiale ou individuelle. Les laboratoires disposent de quelques semaines pour réaliser l'analyse de l'ADN par les techniques dont ils ont l'habitude, interpréter et rédiger le résultat. Leur rendu est ensuite analysé par un groupe d'experts et un rapport final leur est envoyé.

Jusqu'à présent, seule la mucoviscidose a pu être financée à grande échelle, avec un nombre de laboratoires participants augmentant chaque année : 136 en 1996, 145 en 1997, 159 en 1998, 200 en 1999. Pour cette évaluation, les laboratoires doivent tester en aveugle 6 échantillons d'ADN et disposent de 6 semaines pour rendre leur résultat, en précisant les mutations recherchées et la technique utilisée. Globalement, la qualité des résultats s'est améliorée entre 1996 et 1999, le taux de génotypages exacts passant de

76 % à 91 %. Sur les 12 allèles à tester entre 1996 et 2000, 42 % des laboratoires n'ont fait aucune erreur, 40 % ont fait une fois une erreur, 16 % deux erreurs deux années différentes et 2 %, une erreur 3 années différentes. Pour 9 % des laboratoires, il s'agit d'erreurs de génotypage d'un ou plusieurs allèles, et pour 6 % d'erreurs de nomenclature (qui proviennent parfois d'informations erronées fournies par le fabricant sur le kit diagnostic). Les techniques d'analyse du gène CFTR sont très hétérogènes. Les techniques hétéroduplex et de recherche par des enzymes de restriction sont de moins en moins utilisées au profit des techniques de reverse dot blot et d'ARMs. Un taux de 31 % d'erreurs inexcusables est retrouvé dans le rendu des résultats. Dans 25 % des cas, il s'agit d'erreurs administratives, dans 25 % d'erreurs d'évaluation des risques, et dans 50 % d'erreurs d'interprétation des résultats¹⁰. Il est donc nécessaire d'améliorer et de standardiser les tests effectués dans les différents pays, ainsi que le compte rendu du résultat qui devrait normalement contenir toutes les informations nécessaires au médecin pour formuler correctement son conseil.

• L'organisation du conseil génétique : bilan, besoins, perspectives

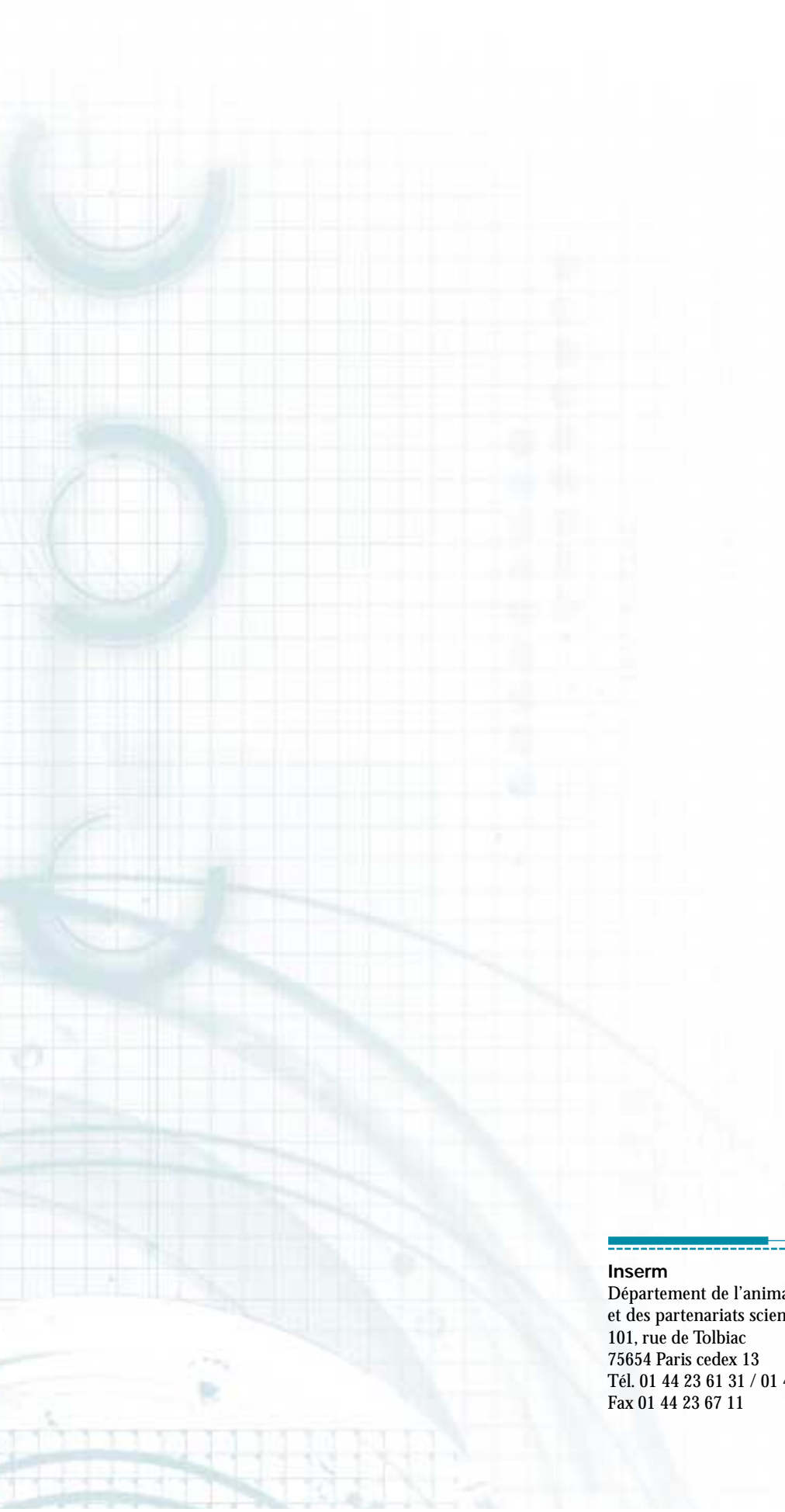
Dans sa démarche, le conseil génétique consiste à recevoir une personne seule ou un couple souhaitant être informé(e) sur son statut génétique. Cette personne ou ce couple ne vient pas pour être traité(e) pour une maladie génétique, mais pour connaître le risque pour l'un d'entre eux ou pour leur descendance d'être concerné(e) par cette maladie. Il s'agit donc d'une démarche de conseil et non de thérapie, ce qui distingue le conseil génétique des autres actes médicaux. Plus le diagnostic de la maladie est juste et précis, plus la notion de risque se transforme en certitude.

Au sein des consultations de conseil génétique, on distingue plusieurs niveaux de complexité suivant les maladies concernées et le contexte du diagnostic. Certaines de ces consultations sont très courantes et font intervenir des examens simples comme le dosage d'un marqueur sérique pour évaluer le risque de trisomie 21. D'autres examens sont plus complexes et font suite à un antécédent familial : études moléculaires en cascade à partir d'un cas index, diagnostic prénatal, diagnostic présymptomatique en neurogénétique adulte et en oncogénétique. Ces examens se font dans le cadre de consultations de génétique médicale souvent longues et difficiles nécessitant une relation de confiance

⁹ Site internet : <http://www.emqn.org>

¹⁰ Voir le supplément de septembre 2000 de la revue *European Journal of Human Genetics*.

entre le médecin et le consultant, ainsi qu'une approche éthique. À l'occasion de ces consultations, des problèmes familiaux peuvent resurgir comme par exemple des problèmes de filiation. L'approche psychologique est donc indispensable. Comment sont organisées ces consultations en France et quels sont les besoins ? Elles se déroulent dans les services de génétique médicale qui travaillent en réseau avec d'autres services hospitaliers (services de spécialités médicales, équipes pluridisciplinaires). Les besoins pour assurer un développement correct de cette activité se situent à plusieurs niveaux. Il est nécessaire non seulement de développer les consultations de génétique médicale dans les CHU, mais aussi de former des spécialistes (disciplines diverses), des infirmières et des sages femmes à la génétique. Cinq cents généticiens supplémentaires sont actuellement nécessaires. En France, chaque année 20 000 enfants naissent avec un handicap ou une malformation, et 230 000 nouveaux cas de cancer sont diagnostiqués (dont 5 à 10 000 liés à des mutations héréditaires). Les activités de conseil génétique doivent s'orienter vers les domaines apportant le bénéfice social le plus élevé : diagnostic pédiatrique, diagnostic anténatal, conseil génétique des différentes spécialités médicales (ORL, ophtalmologie, dermatologie). Chez l'adulte, il est nécessaire de développer des tests prédictifs en neurogénétique adulte et en oncogénétique. Les demandes sont très nombreuses dans le domaine des maladies multifactorielles comme les maladies cardiaques pour lesquelles de nombreux gènes de prédisposition risquent d'être identifiés au cours des prochaines années. Enfin, des pôles de compétences sont nécessaires pour les maladies orphelines rares (par exemple certaines maladies ophtalmiques) afin d'améliorer leur typage génétique et d'établir des corrélations entre génotypes et phénotypes.



Inserm

Département de l'animation
et des partenariats scientifiques

101, rue de Tolbiac

75654 Paris cedex 13

Tél. 01 44 23 61 31 / 01 44 23 61 17

Fax 01 44 23 67 11