

DIFFUSION ET VALIDATION DES TESTS GENETIQUES EN FRANCE

Diffusion and validation of genetic tests in France

Jean-Yves Le Gall et Raymond Ardaillou

(Au nom d'un groupe de travail de l'Académie nationale de médecine*)

Résumé

La génétique moléculaire, discipline scientifique et médicale permettant l'analyse directe de l'ADN, est apparue dans les années 80 et a connu un essor important grâce à la PCR (« Polymerase Chain Reaction ») qui a augmenté considérablement la sensibilité des techniques. Les examens de génétique moléculaire, souvent qualifiés de tests génétiques, ont de nombreuses applications médicales : diagnostic des maladies héréditaires à transmission mendélienne, diagnostics prénatal et préimplantatoire, détermination des facteurs héréditaires de prédisposition aux cancers, dépistage néonatal, dépistage des hétérozygotes dans les familles de sujets atteints ou dans les populations à risque élevé, pharmacogénétique. En raison du nombre et de la complexité des facteurs susceptibles de moduler l'expression clinique de ces affections héréditaires, la réalisation de ces examens doit être accompagnée d'un conseil médical compétent. Le déterminisme d'un grand nombre de maladies communes dites multifactorielles relève de l'interaction de facteurs environnementaux, de facteurs comportementaux et de facteurs génétiques ; l'identification de ces derniers, a priori nombreux pour une même maladie et entraînant chacun un risque relatif faible, est actuellement en cours par des études d'association (GWAS ou « Genome Wide Association Studies ») avec des résultats, jusqu'à présent, limités ; différentes sociétés commerciales étrangères proposent néanmoins de tels tests génétiques qui n'ont en fait aucun intérêt clinique réel. L'analyse du génome à des fins biométriques (empreintes génétiques) est en France strictement réglementée et comporte deux aspects : les applications judiciaires et les tests de paternité ; le recours aux tests de paternité pratiqués à l'étranger dans des conditions techniques non contrôlées, le plus souvent via internet, est devenu très fréquent. L'organisation et la réglementation de la génétique moléculaire en France sont détaillées ainsi que les questions posées par l'ensemble des tests génétiques pratiqués : nécessité de contrôles de qualité et d'un conseil médical pertinent, interdiction d'utiliser ces tests à des fins discriminatoires, en particulier en termes d'assurance et d'emploi, problèmes posés par la diffusion des tests de convenance personnelle. Dans le cadre de la révision en cours des lois de bioéthique, ce rapport formule plusieurs recommandations.

Mots clés : génétique ; expérimentation animale.

Summary

Transgenic mice bear stable, artificially induced genetic modifications that are transmitted to their offspring. They are prepared from cultured embryonic stem cells isolated from blastocysts. The stem cells are then transfected with a vector comprising a selection cassette and the sequence to be introduced, modified or suppressed, lying between two sequences identical to those flanking the target gene. The target gene is thereby "knocked out" and replaced by the selection cassette, through homogeneous recombination. Cells in which

recombination has successfully taken place are sorted by detecting the selection cassette, and are injected into an embryo. This results in so-called mosaic mice which, after crossing, will give birth to mice that are either heterozygous or homozygous for the knocked out gene. A variety of genomic modifications can be obtained with this approach, including gene knock-out, insertion of multiple gene copies, introduction of a reporter gene under the control of the promoter of the gene of interest, and “conditional” mutations that are expressed in a given tissue or for a specific period of time. Transgenic mice can be used to examine the phenotype resulting from a null mutation or from the introduction of multiple gene copies, as well as factors controlling the synthesis of a specific protein, the phenotypic consequences of point mutations, and the genes involved in embryo development. Institutes have been created specifically to phenotype transgenic mice, frequently using non invasive techniques. The results thus obtained are collected in databases, thus allowing scientists to determine the minimal number of animals necessary for a given experiment.

Key-words: genetics; animal experimentation

*Groupe de travail : Ardaillou (Président), Le Gall (Secrétaire), Bégué, Brice, Cabanis, Caen, Clément (Ministère de la recherche), Dagher (Inserm), Dreux, Dubousset, Galibert, Hauw, Jaillon, Jeanteur, Launois, Marcelli, Milgrom, Nézelof, Nicolas, Réthoré, Rouëssé, Soubrier, Sraer, Swynghedauw.

Depuis l'apparition de la génétique moléculaire et la possibilité d'analyser directement l'ADN allant maintenant jusqu'à la connaissance de la séquence intégrale du génome d'un individu, le substantif et l'adjectif « génétique » ont pris auprès du public une connotation mystérieuse et inquiétante, beaucoup se persuadant que notre destin est inscrit dans nos gènes dès notre naissance. Il convient cependant de rappeler que, bien avant l'ère de la génétique moléculaire, de nombreux examens courants de biologie médicale, maintenant qualifiés de phénotypiques et considérés comme tout à fait banaux (groupes sanguins, électrophorèse de l'hémoglobine...) donnaient des informations génotypiques directes. En matière médico-légale, en particulier dans le cas des tests de paternité, l'utilisation de tels polymorphismes phénotypiques (groupes érythrocytaires, groupes HLA) conduisait à des résultats robustes, leurs inconvénients résidant dans leur faible sensibilité, leur complexité technique et leur coût.

Bien que nombre de notions génétiques fondamentales aient été progressivement acquises depuis le début du XX^{ème} siècle (support ADN des caractères héréditairement transmis, structure en double hélice de la molécule d'ADN, transmission de l'information génétique via un ARN messager...), il a fallu attendre le début des années 80 pour que se développent les techniques fines d'analyse de l'ADN. Cette technologie a été conditionnée par la mise au point de nouveaux outils analytiques : endonucléases de restriction reconnaissant des séquences spécifiques de 4, 6 ou 8 nucléotides et découpant l'ADN de façon reproductible en fragments de quelques centaines à quelques milliers de paires de bases, séparation de ces fragments par électrophorèse et visualisation de séquences spécifiques par hybridation avec une sonde complémentaire selon la méthode de Southern, clonage de séquences d'ADN dans des vecteurs comme les plasmides ou les phages, construction de banques d'ADN génomiques et d'ADN complémentaires, séquençage par les techniques de Sanger ou de Maxam et Gilbert... Ces outils ont été à l'origine d'une nouvelle discipline scientifique et médicale : la génétique moléculaire, dont les performances et les résultats se sont

considérablement accélérés à partir de 1985 avec l'apparition de la PCR (« *Polymerase Chain Reaction* »), technique d'amplification reposant sur l'emploi d'une ADN polymérase thermostable et permettant d'obtenir en quelques heures plusieurs millions de copies d'un fragment d'ADN. L'un des acquis les plus spectaculaires de cette discipline a été le séquençage complet du génome humain, dont les deux premières versions ont été publiées simultanément en 2001. L'évolution technologique se poursuit en permanence avec le développement de techniques à haut débit (puces à ADN, séquençage à très haute capacité...) permettant l'analyse simultanée de centaines de milliers de variants polymorphiques tels que les SNP (« *Single Nucleotide Polymorphism* ») et sans doute, dans un avenir proche, le séquençage complet en quelques heures du génome d'un individu donné, et cela pour un prix de revient relativement modique.

I- VARIABILITE GENETIQUE ET MEDECINE

La place de la génétique en pathologie est habituellement résumée en première intention en deux grands chapitres : celui des maladies héréditaires au sens mendélien du terme, au nombre de 4 à 5000, caractérisées par le fait que les anomalies d'un seul gène sont nécessaires et suffisantes pour provoquer un état pathologique, et celui des maladies dites multifactorielles dont le déterminisme relève de la conjonction de plusieurs variants ou mutations génétiques et de facteurs dits environnementaux et comportementaux. Une telle classification apparaît bien entendu à l'usage trop simple ; c'est ainsi que dans le cas des affections mendéliennes l'expression clinique ou biologique est presque toujours modulée par un degré variable de pénétrance ; c'est ainsi également que dans certaines populations la grande fréquence d'une mutation est le résultat d'une longue évolution, ces mutations conférant par ailleurs un avantage sélectif par rapport au milieu. Dans le cas des maladies multifactorielles cette notion de pénétrance est aussi primordiale, en particulier en oncologie. Les résultats de la génétique moléculaire ont également fait apparaître l'absence de relation univoque entre anomalie génique et symptomatologie, avec schématiquement trois situations possibles : 1. Une même maladie au sens clinique et biologique habituel peut être provoquée par des anomalies de plusieurs gènes différents : il s'agit d'une situation de convergence phénotypique, encore qualifiée d'hétérogénéité génétique, (une centaine de gènes peut être impliquée dans le déterminisme des rétinites pigmentaires, également une centaine dans les surdités syndromiques, et il existe une hétérogénéité importante dans les cardiomyopathies, les fièvres héréditaires...). 2. Des anomalies différentes d'un même gène peuvent engendrer des maladies cliniquement différentes. C'est un phénomène de divergence phénotypique ou d'hétérogénéité allélique : gène de la dystrophine et myopathies de Duchenne ou de Becker, gène du récepteur des androgènes dont certaines anomalies sont responsables d'un syndrome de féminisation par insensibilité aux ligands et d'autres d'une maladie neurodégénérative, gène du récepteur de la LH dont certaines mutations entraînent une perte de fonction (hypogonadisme) et d'autres provoquent un gain de fonction (puberté précoce), oncogène RET dont certaines mutations sont responsables de la maladie de Hirschprung et d'autres de néoplasies multiples..... 3. Une même mutation peut engendrer des maladies de gravité très différente ; il s'agit là d'une situation de discordance phénotypique (drépanocytose par mutation glu 6 val du gène de la β -globine pouvant correspondre aussi bien à des formes sévères qu'à des formes silencieuses, mutation delta F 508 et mucoviscidose avec ou sans insuffisance pancréatique...). Enfin, en thérapeutique, la pharmacogénomique, c'est à dire l'exploitation de la connaissance du génome pour trouver de nouveaux médicaments, et

surtout la pharmacogénétique définie comme la variabilité des réponses aux médicaments en raison du polymorphisme génétique, prennent une importance grandissante.

Les facteurs impliqués dans la complexité d'expression des maladies génétiques, même mendéliennes, sont sans doute nombreux, tant environnementaux que génomiques, mais encore très mal connus : localisation cellulaire de la chaîne polypeptidique mutée, appartenance éventuelle de cette chaîne à une protéine hétéropolymérique, fonction pléiotropique de la protéine mutée, polymorphismes dans les régions régulatrices, polymorphismes affectant l'épissage du transcrit primitif (ex : polymorphisme 5T dans l'intron 8 du gène « *cystic fibrosis transmembrane regulator* » ou CFTR), existence de gènes modificateurs (ex : gène CLF ou « cholesterol lowering factor » réduisant l'hypercholestérolémie induite par les mutations du gène « *low density lipoprotein* ou LDL receptor »), modifications épigénétiques, rôle des ARN interférants (« RNAi »).....A l'exception de quelques cas particuliers, la complexité du déterminisme d'expression des maladies mendéliennes rend très souvent difficile l'estimation exacte de leur évolution et relativise la valeur prédictive des tests génétiques ; cela est encore plus vrai dans le cas des maladies dites multifactorielles et justifie la nécessité d'associer systématiquement examen de génétique moléculaire et conseil médical compétent, alors qualifié de conseil génétique.

Par rapport à l'exercice habituel de la biologie médicale, la pratique des examens de génétique moléculaire présente un certain nombre de particularités : un résultat de test génétique est en tant que tel une information médicale et non la simple mesure d'une activité métabolique dont l'interprétation demande à être resituée dans un contexte clinique et biologique plus large ; cette information peut être directement diagnostique ou prédictive d'une maladie future (chorée de Huntington...) ; ses conséquences impliquent bien entendu le patient, mais aussi potentiellement l'ensemble de sa parentèle ; enfin, cette information est un résultat provenant d'une investigation technique de complexité variable : recherche ponctuelle d'une ou plusieurs mutations, séquençage partiel ou complet d'un gène.....

A. MALADIES HEREDITAIRES MONOGENIQUES

Il existe environ 2000 maladies héréditaires à transmission mendélienne dont les gènes responsables ont été identifiés ; 100 à 150 d'entre elles peuvent être reconnues, en raison de leur relative fréquence, par des tests génotypiques de pratique courante, alors que 900 autres sont épisodiquement étudiées dans les différents laboratoires européens de génétique moléculaire.

Les anomalies géniques responsables de ces maladies sont très diverses : mutations ponctuelles dans un exon entraînant le changement d'un acide aminé de la chaîne polypeptidique correspondante, mutation non-sens provoquant l'apparition prématurée d'un codon stop et le raccourcissement de la chaîne, délétion d'un nucléotide responsable d'un décalage du cadre de lecture avec habituellement synthèse d'un polypeptide en partie anormal dans sa structure et tronqué, délétion d'un codon (ex : mutation delF508 du gène CFTR), délétion étendue parfois sur plusieurs dizaines ou centaines de kilobases (ex : gène de la dystrophine et myopathie de Duchenne), mutation ponctuelle dans un intron responsable d'anomalies d'épissage et d'anomalies structurales de la chaîne polypeptidique (ex : anomalies de la lamine A et progéria ou maladie de Hutchinson-Gilford), mutation ponctuelle dans les zones régulatrices (ex : syndrome de persistance héréditaire de l'hémoglobine fœtale), expansion de triplets dans un exon (ex : chorée de Huntington, ataxies cérébelleuses) ou dans un intron (ataxie de Friedreich), inversion intragénique (ex : gène du facteur VIII et hémophilie A). Bien entendu les techniques utilisées pour effectuer le diagnostic des maladies héréditaires doivent être adaptées à la nature des lésions génomiques causales.

Un des modèles de maladie héréditaire à transmission mendélienne le plus étudié est celui de la mucoviscidose, maladie autosomique la plus fréquente dans les populations d'origine européenne (en France une naissance sur 3200 et un individu hétérozygote sur 25). Le gène CFTR a été identifié en 1989, cette identification ayant été l'un des premiers succès de la stratégie de clonage positionnel. Dans les populations européennes la mutation la plus fréquente est une délétion de trois nucléotides correspondant à la perte d'un codon phénylalanine en position 508 (mutation F508del) ; cette mutation représente 70% des allèles pathologiques, les 30% restant regroupant environ 1500 mutations différentes de tous types, éparpillées sur l'ensemble des 27 exons du gène ; récemment il a été également montré la possibilité de délétions et de duplications d'un ou de plusieurs exons. Enfin chez les sujets normaux une proportion variable d'ARN messager du gène CFTR est dépourvue d'exon 9, en raison d'un saut alternatif d'exon lié à une séquence polyT localisée à la fin de l'intron 8 : trois allèles existent (9T, 7T et 5T) et l'efficacité d'inclusion de l'exon 9 dans l'ARN messager est inversement proportionnelle au nombre de résidus pyrimidiques ; ainsi pour l'allèle 5T, 70 à 90% des ARN sont dépourvus d'exon 9 correspondant à l'absence de 31 acides aminés dans la protéine ; la configuration de celle-ci est alors modifiée ce qui empêche sa maturation et son adressage à la membrane cellulaire. En définitive ce polymorphisme intronique est susceptible d'aggraver de façon importante la sévérité du tableau d'une mucoviscidose due à des mutations a priori mineures. Le nombre et la complexité des mutations potentiellement en cause illustrent la complexité du diagnostic génotypique. En outre le tableau clinique est de gravité variable, non seulement en fonction de la nature des mutations, mais parfois également au sein d'une même famille, par exemple en cas d'homozygotie F508del : il s'agit de l'influence du polymorphisme du gène CFTR lui-même (tel que le polyT de l'intron 8) mais aussi de plusieurs gènes modificateurs tels que l'homologue humain du gène murin CFM1 (« *Cystic Fibrosis Modulator* ») et le gène TGF -1 (« *Transforming Growth Factor -1* »).

Cette notion de pénétrance variable, qui rend indispensable le conseil génétique, est également illustrée par l'exemple de la drépanocytose ou hémoglobinose S, première maladie moléculaire caractérisée en 1949 (Pauling et Itano) par électrophorèse de l'hémoglobine, correspondant à l'homozygotie pour une mutation ponctuelle entraînant une substitution glu val en 6^{ème} position de la chaîne de la globine. Cette mutation est le résultat d'au moins quatre effets fondateurs en Afrique occidentale, en Afrique équatoriale, au Moyen orient et en Inde. Classiquement la maladie se caractérise par une anémie hémolytique et des crises vaso-occlusives douloureuses, mais il existe une diversité considérable de sa gravité, depuis les formes létales dès la première enfance jusqu'aux formes totalement asymptomatiques la vie durant. Ces différences sont non seulement interethniques et alors liées aux haplotypes fondateurs, mais s'observent également entre familles de même origine et à l'intérieur d'une même famille. Les gènes modificateurs n'ont pas encore été identifiés, mais dans la physiopathologie de la maladie un facteur paraît essentiel : il s'agit du taux résiduel d'hémoglobine fœtale qui empêche la polymérisation de l'hémoglobine S et la falciformation des globules rouges.

La notion de pénétrance variable est encore illustrée par le cas de l'hémochromatose, anomalie de régulation de l'absorption intestinale du fer entraînant son accumulation tissulaire avec une symptomatologie biologique (augmentation du pourcentage de saturation de la transferrine) et éventuellement clinique (cirrhose, déficit hypophysogonadique...). L'affection est quasi mono-allélique (mutation C282Y du gène HFE), mais son expression clinique, aujourd'hui pratiquement impossible à appréhender en raison du traitement préventif déclenché au vu d'anomalies biologiques, était sans doute très peu fréquente (entre 2 et 15% suivant les estimations).

B. MUTATIONS ET EFFETS PROTECTEURS

Le génome de nos contemporains est le résultat d'une longue évolution et au moins pour une part d'adaptation aux conditions du milieu. Certaines mutations peuvent cependant apparaître paradoxales car elles combinent un effet bénéfique ou protecteur, et en définitif un avantage sélectif et un effet pathologique. L'exemple le plus anciennement connu est celui de l'hémoglobine S dont la répartition géographique en Afrique et au Moyen Orient recouvre la carte de l'infestation paludéenne : les individus porteurs de cet allèle « pathologique » sont en général protégés contre les formes graves, mortelles du paludisme. Un autre exemple est celui de l'allèle C282Y du gène HFE, fréquent dans les populations du nord-ouest de l'Europe : il est possible que dans un environnement où l'alimentation était pauvre en fer, l'hyperabsorption et l'accumulation tissulaire de ce métal aient constitué un avantage sélectif ; une autre hypothèse est que l'absence de protéine HFE au pôle apical des cellules intestinales ait été un facteur de protection contre les grandes endémies, comme le choléra, qui ont ravagé l'Europe au moyen-âge.

Un dernier exemple d'actualité est celui de la délétion CCR5-32 : la protéine CCR5 est un récepteur des chimiokines ; la délétion de 32 paires de bases dans le promoteur a pour conséquence l'incapacité d'exprimer à la surface membranaire le récepteur, utilisé par le virus du Sida pour pénétrer dans les cellules et les infester. Dans les populations originaires de l'hémisphère Nord 1% des sujets est homozygote pour la mutation 32 et donc protégé, dans la quasi totalité des cas, contre l'infection par le VIH ; ces individus ne présentent aucun trouble particulier de santé mais pourraient être plus exposés au développement d'une encéphalite mortelle provoquée par des flavivirus transmis par des moustiques.

C. PREDISPOSITION GENETIQUE ET CANCER

Les affections malignes sont le résultat d'anomalies de l'ADN. Dans la majorité des cas le premier événement mutationnel est somatique et responsable de cancers dits sporadiques, mais dans une faible proportion des cas les anomalies sont germinales, responsables de cancers dits héréditaires, ségréguant dans les familles de façon mendélienne dominante ou récessive avec une pénétrance plus ou moins importante. Les prédispositions héréditaires au cancer ont pour origine des mutations dans des gènes appartenant à trois grands groupes : des gènes suppresseurs de tumeur ou « *gatekeepers* » (gène APC dans la polypose adénomateuse familiale, CDH1 dans le cancer gastrique familial....) ; des gènes de stabilité ou « *caretakers* » (BRCA1 et BRCA2 dans les cancers héréditaires du sein et de l'ovaire, MLH1, MSH2 et MSH6 dans les cancers héréditaires du colon : « *hereditary non polyposis colorectal cancer* ou HNPCC.....) ; des oncogènes (RET dans les néoplasies endocriniennes multiples de type 2...). Mais les cancers dits sporadiques peuvent également être considérés comme le résultat de l'accumulation d'effets génétiques plus ou moins faibles correspondant à des variants polymorphiques, dont l'inventaire est loin d'être terminé, interagissant avec les effets du mode de vie et de l'environnement. Ainsi, dans le cas du cancer du sein, les facteurs génétiques de prédisposition peuvent être en définitive classés en trois groupes : 1- des variants géniques à risque relatif élevé (10 à 20) : BRCA1, BRCA2, TP53 et STK11 ; 2- des variants à risque plus faible (2 à 4) : ATM, BRIP2, CHEK2, PALB2.....3- des SNPs à risque relatif à peine supérieur à 1 dont 7 ont été aujourd'hui identifiés.

Dans notre pays l'activité d'oncogénétique est rigoureusement structurée. Une cinquantaine de consultations, où les patients sont le plus souvent adressés par un médecin ou par un apparenté, ont été ouvertes en majorité dans des centres de lutte contre le cancer (CLCC) ou des centres hospitalo-universitaires (CHU). Les consultations sont assurées par des médecins ayant en général une double formation en génétique et en oncologie ; elles s'appuient sur les résultats d'un réseau de laboratoires d'oncogénétique moléculaire agréés (25 en 2003). Les principaux gènes analysés sont ceux impliqués dans les cancers du sein et de l'ovaire, le syndrome HNPCC, les polyposes coliques (APC, SMAD4, STK11, PTEN, BMPR1A, MYH...), le cancer de l'estomac (CDH1), les néoplasies endocriniennes

multiples et paragangliomes (RET, MEN1, SDHD, SDHB, SDHC.....), le rétinoblastome (Rb), le syndrome de Li-Fraumeni (TP53), les cancers du rein (VHL, MET), les cancers cutanés et syndromes à composante dermatologique (CDK2A, CDK4, PTEN, PATCH1...), les tumeurs neurologiques (NF2).

D. MALADIES DITES MULTIFACTORIELLES

Le déterminisme des maladies dites multifactorielles relève donc de l'interaction entre facteurs génétiques, parfois nombreux et n'ayant très souvent chacun en eux-mêmes qu'un faible pouvoir pathogène, et de facteurs environnementaux ou comportementaux. Ce concept englobe la grande majorité des maladies communes (cardiovasculaires, nutritionnelles, neurodégénératives...) responsables d'une part importante de la morbidité et de la mortalité dans la population adulte. Deux types de méthodes ont été utilisés pour identifier les variants alléliques en cause : les études de « linkage » reposant sur les analyses de ségrégation de traits morbides dans les familles et les études d'association reposant sur la comparaison à grande échelle de cohortes de sujets non apparentés malades et témoins . Ces études d'association (« *Genome Wide Association Studies* » ou GWAS) analysent aujourd'hui 500 à 600 000 SNPs, mais l'interprétation de leurs résultats se heurte à de nombreuses difficultés : mise en évidence de polymorphismes non à l'origine de la maladie mais en simple déséquilibre de liaison avec le gène responsable, caractérisation de risques relatifs très faibles (à peine supérieurs à un) et dont la signification pathologique réelle est d'interprétation difficile, en particulier par rapport aux facteurs environnementaux, différence de fréquence des allèles en fonction des origines ethniques....

Les résultats les plus intéressants concernent les variants géniques correspondant à des risques relatifs relativement importants. Outre le domaine de l'oncogénétique, citons les associations entre allèle C112R du gène de l'ApoE (ApoE4) et la maladie d'Alzheimer (risque relatif 4-15), allèle 1007fs du gène NOD2 et maladie de Crohn (risque relatif 2-4), allèle Y402H du facteur H du complément et dégénérescence maculaire liée à l'âge (risque relatif 2-4 chez les hétérozygotes, 5-7 chez les homozygotes)..... A ce jour, grâce en particulier aux études GWAS, 250 polymorphismes associés à des maladies ou à des traits pathologiques ont été identifiés, la grande majorité correspondant à un risque faible (de l'ordre de 1,2-1,3) . Néanmoins le bilan actuel de ces analyses est décevant en raison de la nécessité d'étudier des cohortes de plusieurs milliers d'individus pour obtenir des résultats statistiquement significatifs et de la faiblesse des effets phénotypiques potentiellement associés à ces variants. Les SNPs analysés correspondant à des polymorphismes dont la fréquence de l'allèle mineur est d'au moins 5%, l'hypothèse est aujourd'hui faite que les variants caractérisés ne sont responsables que d'une faible part de l'effet pathologique, le reste relevant vraisemblablement de variants rares qui seront potentiellement identifiés par le séquençage systématique des génomes ainsi que d'interactions entre les gènes, et entre gènes et environnement. Cependant, on ne peut préjuger de l'évolution des techniques, tout en sachant qu'une interprétation raisonnée des séquences nécessitera l'intervention de médecins généticiens spécialisés. La perspective de porter sa séquence d'ADN sur un support informatique type carte Vitale n'est plus illusoire et pourrait, dans l'avenir, apporter un complément d'informations utiles aux décisions médicales.

La caractérisation de tous ces variants géniques présente par ailleurs un intérêt biologique plus fondamental en mettant souvent en évidence des voies métaboliques et surtout des interactions jusqu'alors inconnues ; elle est également intéressante pour la compréhension des affections en cause. En revanche, elle ne présente actuellement aucun intérêt diagnostique, par rapport aux examens courants de la biologie médicale ; néanmoins des sociétés de biotechnologie, en particulier américaines (DecodeMe, 23andme...), proposent

la détermination de tels variants potentiellement en cause dans le déterminisme de plusieurs maladies multifactorielles.

E. PHARMACOGENETIQUE ET PHARMACOGENOMIQUE

La pharmacogénétique se définit donc comme l'influence de la variabilité du génome dans la réponse aux médicaments, la pharmacogénomique comme l'utilisation de la connaissance du génome dans la recherche de nouveaux médicaments. La pharmacogénétique est apparue pour répondre à l'étude des effets indésirables des médicaments qui seraient responsables de 100 000 décès par an aux Etats-Unis dont la moitié seulement correspondrait à un mauvais emploi ; en France 20% des malades admis dans un service d'urgence le sont pour ce type d'accident.

Schématiquement le devenir d'un médicament dans l'organisme comporte trois grandes étapes : transport et métabolisme, action sur sa cible, enfin réponse de l'organisme. De nombreux facteurs endogènes, en particulier génétiques, et exogènes sont susceptibles d'interférer avec l'une ou l'autre de ces étapes. L'élimination des médicaments se fait principalement après transformation métabolique (environ les deux tiers) ou directement par voie rénale ou biliaire. Les trois quarts des médicaments métabolisés le sont par les membres de la superfamille des cytochromes P450, systèmes enzymatiques présentant de nombreuses isoformes et une grande variabilité génétique. La variabilité individuelle de réponse aux médicaments se constate et se mesure phénotypiquement ; elle trouve sa base génétique dans le polymorphisme des gènes. L'étude préalable de cette variabilité génétique est susceptible de prédire la nature de la réponse thérapeutique ; le test le plus ancien est ainsi le génotypage de la thiopurine méthyltransférase, impliquée dans le métabolisme de l'azathiopurine utilisée dans le traitement de leucémies de l'enfant et dans celui de la maladie de Crohn : il existe en effet dans la population environ 0,3% de métaboliseurs lents susceptibles de développer aux doses habituelles une neutropénie sévère, voire mortelle, et chez lesquels il est nécessaire de diminuer d'environ 90% la posologie ou d'instaurer un autre traitement.

Tous ces aspects de la pharmacogénétique et de la pharmacogénomique ont fait l'objet d'un rapport précédent de l'Académie nationale de médecine. Ce rapport aboutissait à un certain nombre de recommandations dont la mise en œuvre n'a pas encore été entièrement effectuée.

II- TESTS GENETIQUES

Les analyses de génétique moléculaire, usuellement désignées « tests génétiques », font dans notre pays l'objet d'une pratique médicale, en particulier biologique, réglementairement encadrée et susceptible de mettre en œuvre, en fonction des finalités poursuivies, une grande diversité de techniques.

A. TESTS DIAGNOSTIQUES

Ils concernent les maladies héréditaires à transmission mendélienne et l'oncogénétique. Environ 2000 gènes impliqués dans ces maladies ont été identifiés à ce jour, la grande majorité responsables de pathologies rares ou rarissimes ; 900 d'entre eux environ sont

susceptibles d'être étudiés dans les laboratoires européens. Les techniques utilisées vont des plus simples au séquençage complet du gène (exons, introns, régions promotrices) en fonction de la nature et de la complexité du gène, de la nature des anomalies déjà connues : mutations unique ou multiple... Cette extrême diversité des anomalies géniques potentielles complique le diagnostic moléculaire puisqu'elle demande une stratégie d'analyse propre à chaque gène et à chaque maladie ; exceptionnellement une seule mutation est en cause (ex : drépanocytose) ; mais les situations où un grand nombre de mutations sont possibles (ex : mucoviscidose), ou, à l'inverse, des lésions de plusieurs gènes différents sont à l'origine d'un même phénotype pathologique (ex : rétinites pigmentaires) sont les plus courantes.

En définitive, ces analyses doivent poser, confirmer ou le cas échéant exclure un diagnostic. Néanmoins l'identification de 2000 gènes est encore loin de résoudre l'ensemble des problèmes diagnostiques posés : l'exemple en est celui de la fièvre méditerranéenne familiale, fréquente dans les populations arméniennes et juives sépharades, de symptomatologie clinique peu explicite et dont l'ensemble des gènes responsables n'a pas encore été identifié, ce qui justifie toujours le test thérapeutique à la colchicine.

B. CONSEIL GENETIQUE

Les tests prescrits en vue de conseil génétique relèvent de deux grands groupes : prénatal (diagnostic prénatal et diagnostic préimplantatoire) et postnatal (dépistage des hétérozygotes pour les affections autosomiques récessives, diagnostic présymptomatique et dépistage des mutations autosomiques dominantes, dépistage des femmes hétérozygotes pour une maladie liée à l'X).

Le diagnostic prénatal (DPN) est habituellement effectué à la demande d'un couple précédemment confronté à une maladie génétique dans son ascendance ou sa descendance (cas index) ; il conduit à une interruption thérapeutique de grossesse en cas de résultat défavorable. L'ADN fœtal est préparé soit à partir de cellules amniotiques, soit à partir des cellules trophoblastiques. Dans le sang maternel, du matériel fœtal est présent sous forme de cellules (érythroblastes, lymphocytes, cellules épithéliales trophoblastiques) et surtout sous forme d'ADN extracellulaire ; ce matériel est utilisable pour un diagnostic de sexe (par amplification directe d'une séquence spécifique du chromosome Y) et pour le diagnostic précoce d'incompatibilité foeto-maternelle. De gros efforts sont faits pour améliorer et étendre les indications de ces méthodologies qui présentent l'énorme avantage d'éviter des techniques invasives de prélèvement, sources non négligeables d'avortement. La mutation recherchée ayant déjà été identifiée chez le cas index (ou à défaut chez des parents obligatoirement hétérozygotes), le diagnostic génotypique est simple et direct.

Une alternative au diagnostic prénatal est le diagnostic préimplantatoire (DPI) : l'analyse succède à une fécondation in vitro, afin de ne réimplanter in utero qu'un embryon non atteint et éviter ainsi le recours à une interruption de grossesse. Le DPI combine les difficultés de la fécondation in vitro, celles du prélèvement de matériel embryonnaire (habituellement 1 ou 2 blastomères au 3^{ème} jour, c'est à dire au stade 8-10 cellules) et celles de l'analyse génotypique à partir de quelques picogrammes d'ADN reposant sur les performances et la qualité de la PCR. En raison de ces difficultés multiples le DPI n'est pratiqué en France que dans trois centres (Paris, Marseille, Strasbourg) ayant reçu un agrément particulier.

Le domaine post-natal ne souffre pas des mêmes contraintes que le diagnostic anté-natal ; avec le développement de la PCR il n'est même plus besoin d'un prélèvement sanguin. Initialement conçu comme instrument de base à un conseil génétique, le diagnostic génotypique post-natal peut donner lieu maintenant à de nombreuses dérives commerciales. Il s'agit dans le cadre d'études familiales étendues (fratries de conjoints avec un enfant atteint, frères et sœurs d'un malade) de dépister les hétérozygotes porteurs sains de la mutation, la logique voulant que de tels examens soient également pratiqués chez les conjoints ou futurs conjoints et conduisent à des diagnostic prénataux si ceux-ci s'avèrent

également hétérozygotes. Une situation particulière, souvent qualifiée de diagnostic présymptomatique, est celle du diagnostic génotypique de maladies autosomiques dominantes à révélation plus au moins tardive qui soulève de nombreux problèmes éthiques et psychologiques ; l'exemple extrême est celui de la chorée de Huntington dont le diagnostic moléculaire correspond à une dégradation cérébrale annoncée, puisque sa pénétrance est pratiquement de 100%.

Quant aux polymorphismes génétiques portés à la connaissance du patient, le plus souvent à sa demande, il est bien entendu qu'on ne peut que conseiller à ce dernier de prendre avis auprès d'une consultation spécialisée afin qu'il soit conscient du peu de fiabilité prédictive de ces analyses.

C. DEPISTAGE NEONATAL ET PRECONCEPTIONNEL

Les programmes de dépistage néonatal systématique utilisent en France la mesure de paramètres biochimiques usuels : phénylalanine dans le cas de la phénylcétonurie, TSH dans celui des hypothyroïdies, 17 OH progestérone dans celui des hyperplasies congénitales des surrénales, trypsine pour la mucoviscidose et, dans certains groupes ethniques, électrophorèse de l'hémoglobine pour la drépanocytose. Ce n'est que dans le cas de la mucoviscidose que des recherches de mutations du gène CFTR sont effectuées en deuxième intention, en cas de résultat biologique anormal. Cependant dans certaines populations, en cas de très forte prévalence d'une mutation, la stratégie de dépistage néonatal peut être amenée à utiliser un test génotypique (ex : recherche de la mutation F508del au Danemark).

En cas de forte prévalence de certaines affections héréditaires dans quelques populations, les indications du dépistage peuvent inclure celui des hétérozygotes chez les adultes jeunes, les couples en âge de procréer ou les femmes enceintes en début de grossesse. Les exemples les plus anciens sont ceux du dépistage de la thalassémie à Chypre et en Sardaigne dont le résultat a été de faire baisser la fréquence de l'affection de 90% en 15 ans et du dépistage de la maladie de Tay-Sachs chez les juifs ashkénazes aux Etats-Unis par la recherche des quatre mutations principales. De nombreux programmes expérimentaux de dépistage en population générale (X fragile, maladie de Sandhoff, facteur V Leiden....) sont proposés ; ils font l'objet de débats importants.

D. TESTS DE PREDISPOSITION ET MALADIES COMPLEXES

Ce sont des affections recouvrant presque toute la pathologie commune et dont le déterminisme relève de facteurs génétiques, de facteurs environnementaux et de facteurs comportementaux. L'ambition est d'aboutir à une médecine dite prédictive, ou plus exactement à une médecine de prévention, reposant non plus sur un diagnostic de certitude mais sur un diagnostic de probabilité. Pour le moment il s'agit d'un concept resté largement théorique, la technologie utilisée, celle des puces à ADN, n'ayant donc donné que des résultats limités. Néanmoins des sociétés commerciales étrangères proposent des tests génétiques de ce type, dont l'intérêt médical réel est inexistant.

E. TESTS MEDICOLEGAUX ET TESTS DE PATERNITE

L'utilisation du génome à des fins biométriques (voir le rapport de l'ANM) repose sur la notion qu'à l'exception des jumeaux monozygotes, tous les humains ont un génome sensiblement différent en raison du polymorphisme génétique. Pour des raisons de facilité technique, de coût et surtout de sensibilité grâce à la PCR, les méthodes biologiques classiques ont été supplantées par l'analyse de l'ADN, c'est à dire par la détermination des

« empreintes génétiques » : d'abord étude des VNTR (« *Variable Number of Tandem Repeats* »), puis des microsatellites ou STR (*Short Tandem Repeats*). Les STR actuellement utilisés pour établir le profil génétique d'un individu ont été standardisés à l'échelon international ; ils ont été choisis pour avoir une fréquence équilibrée des différents allèles et sensiblement identique d'un groupe ethnique à l'autre. Différents « kits » commerciaux sont disponibles sur le marché ; ils testent simultanément 11 à 16 microsatellites indépendants et localisés sur les autosomes, les produits d'amplification étant ensuite séparés par électrophorèse capillaire et identifiés en jouant sur la nature des fluorophores et la taille des fragments.

L'analyse génotypique à des fins d'identification est en France un acte de médecine légale strictement réglementé, qui ne peut être pratiqué que par des laboratoires et des biologistes agréés et ceci dans des circonstances définies par la loi. Les applications judiciaires (vols, crimes, agressions sexuelles...) sont les plus fréquentes, la deuxième application étant celle des tests de paternité. La puissance et la fiabilité de ces méthodes sont telles qu'elles sont considérées comme sûres à 100% lorsque l'on dispose d'un élément de comparaison, comme dans le cas des tests de paternité. En ce qui concerne ces tests, le dispositif juridique actuel autorise environ 1500 expertises annuelles. Le dispositif légal français est sans doute une quasi-exception, les contraintes réglementaires étant beaucoup plus souples en Suisse, Espagne, Angleterre, Allemagne.... Aux Etats-Unis les « kits » pour effectuer ces tests sont en vente libre. Le recours à ces tests étrangers depuis la France et le plus souvent via internet, a connu un développement important, un expert près de la cour de cassation ayant évalué en 2007 cette activité à environ 10 000 tests par an (pour un prix compris entre 200 et 500 euros par examen). La distorsion entre les deux chiffres précédents (1500 et 10 000) justifierait une révision de la procédure réglementaire dans notre pays.

III- ORGANISATION ET REGLEMENTATION DE LA GENETIQUE MOLECULAIRE EN FRANCE

L'organisation et la réglementation de la génétique moléculaire en France trouve sa source dans de multiples documents dont les principaux sont les lois cadres de bioéthique du 29 juillet 1994 et du 6 août 2004, le décret du 23 juin 2000 relatif aux conditions de prescription et de réalisation des examens génétiques d'une personne, la loi Kouchner du 4 mars 2002 relative aux droits des malades et à la qualité du système de santé, la loi relative à la santé publique du 9 août 2004. L'ensemble de ces règles juridiques est rassemblé dans le code civil, le code pénal et le code de la santé publique. La révision des lois de bioéthique prévue dans les textes antérieurs et rendue nécessaire par les progrès techniques et l'évaluation faite de l'application des lois précédentes a été l'objet de multiples rapports assortis de propositions parmi lesquels on doit citer le rapport du Conseil d'Etat, les avis du Comité Consultatif National d'Ethique (CCNE) et l'expertise collective de l'Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM) sur les tests génétiques. Il s'y ajoute les recommandations de la Commission Européenne. Plutôt que d'analyser un à un ces textes, nous essaierons de résumer les principes sur lesquels s'appuie la réglementation en vigueur et d'analyser les questions en suspens. Il convient aussi de souligner que notre étude considère uniquement les tests génétiques relatifs au patrimoine héréditaire et non ceux concernant les modifications du génome somatique observées dans les cellules tumorales. En effet, ces derniers n'apportent aucun renseignement relatif à la parentèle et fournissent au médecin des informations à caractère strictement individuel dont l'objet est de mieux établir les indications thérapeutiques et le pronostic de la tumeur. Les tests génétiques considérés ci-dessous sont ceux autorisés en France dans le respect de la loi. Nous envisagerons successivement les différents types de tests génétiques utilisés dans notre pays, puis examinerons les questions posées par l'ensemble de ces tests : la nécessité d'une assurance qualité, le conseil génétique et l'information de la parentèle, l'interdiction d'utiliser les

résultats des tests à des fins discriminatoires, la diffusion des tests génétiques de convenance personnelle.

A- UTILISATION LICITE DES TESTS D'ANALYSE GENETIQUE EN FRANCE

Tests effectués au plan individuel à des fins médicales.

Il s'agit de tests effectués sur prescription médicale. Ils ne doivent être prescrits que s'ils sont utiles à la personne examinée. Il faut bien se rappeler que, d'une manière générale, le résultat obtenu n'est pas une donnée chiffrée d'un paramètre biologique, mais une information sur un risque encouru, cela bien évidemment lorsqu'il s'agit de déterminer un polymorphisme génétique, mais aussi dans le cas des mutations mendéliennes dont la pénétrance est variable et donne donc lieu à des phénotypes plus ou moins marqués. Il faut toujours mettre en balance, avant de prescrire un test, l'intérêt pour le patient de bénéficier d'un diagnostic précis assorti éventuellement d'un pronostic et d'un traitement, et les inconvénients d'induire un état anxieux, le patient confondant souvent risque avec certitude. Dans tous les cas, le patient doit donner son consentement et être informé des caractéristiques et de la portée de l'information qui lui sera fournie. On doit le prévenir que très souvent un test prescrit dans un but précis peut procurer d'autres informations qui n'étaient pas recherchées au départ et savoir s'il souhaite ou non en être informé. Le droit pour le patient de ne pas savoir ne doit en aucun cas être transgressé. Lorsqu'il s'agit d'un mineur ou d'une personne vulnérable, l'autorisation du représentant légal doit être demandée. Si on aboutit au diagnostic d'une maladie génétique grave, il est préférable de donner l'information par écrit. Dans tous les cas, les résultats doivent être rendus par le médecin prescripteur dans le cadre d'une consultation spécialisée de génétique et non par le laboratoire seul.

Tests prénatals

Comme indiqué plus haut, on distingue le diagnostic prénatal et le diagnostic préimplantatoire. Le diagnostic prénatal s'effectue dans deux circonstances différentes. Il peut s'agir d'un couple dont un des membres se sait porteur d'une anomalie génétique ou qui a donné naissance lors d'une grossesse précédente à un enfant atteint d'une maladie génétique. Il peut s'agir aussi de confirmer une maladie génétique soupçonnée lors des échographies pratiquées de façon systématique au cours des grossesses. Le diagnostic prénatal a pour finalité d'informer le couple de la naissance à venir d'un enfant atteint d'une maladie pouvant être sévère et d'en préciser le diagnostic. Il revient au couple de prendre la décision, soit de demander une interruption médicale de grossesse, soit d'accepter de poursuivre la grossesse tout en assurant la meilleure prise en charge de l'enfant à sa naissance. Le diagnostic prénatal nécessite habituellement une amniocentèse avec culture et examen des cellules du liquide amniotique ou une choriocentèse avec prélèvement de cellules du trophoblaste. Cependant, il sera bientôt possible d'examiner l'ADN des cellules fœtales circulant dans le sang maternel. Ces progrès techniques qui rendent le diagnostic prénatal plus facile présentent le risque d'informer les parents d'anomalies mineures. Ceux qui sont en quête d'un « enfant parfait » pourraient opter pour une interruption volontaire de grossesse si l'interruption médicale leur est refusée.

Le diagnostic préimplantatoire est plus rarement réalisé du fait de ses contraintes. Il suppose une stimulation ovarienne, puis le tri des embryons après prélèvement d'une ou deux cellules trois jours après une fécondation in vitro et enfin l'implantation intra utérine des embryons sélectionnés. Il concerne principalement les couples risquant de transmettre une

maladie génétique grave et qui ont souvent un enfant déjà atteint. Le diagnostic préimplantatoire leur permet d'éviter de devoir recourir à une interruption médicale de grossesse en cas de diagnostic prénatal positif ou, s'il s'agit d'une maladie génétique liée au sexe, d'éliminer les embryons de sexe masculin. La question s'est également posée de sélectionner un enfant pouvant servir de donneur à un frère ou une sœur malade dont le traitement nécessite une greffe de moelle. L'embryon sélectionné doit être indemne de la maladie et porteur d'un groupe HLA compatible. Le diagnostic préimplantatoire soulève de nombreuses questions éthiques dont les principales sont l'appréciation de la sévérité de la maladie génétique permettant d'y avoir recours, le choix des embryons à transplanter (les hétérozygotes qui donneront des enfants sains mais transmettront la maladie doivent-ils être exclus ?), la possibilité d'instrumentaliser un enfant à naître comme médicament.

Tests effectués à des fins de recherche médicale

Ces tests génétiques concernent de larges populations et ont essentiellement deux objectifs : 1- prédire le risque individuel d'être atteint à terme d'une maladie polygénique ; 2- découvrir de nouvelles voies biochimiques à la base de ces maladies polygéniques. Le séquençage de la totalité du génome humain terminé en 2005, puis la carte des haplotypes (série de polymorphismes proches les uns des autres dans le génome) ont permis la mise au point des techniques d'exploration pan génomiques, citées plus haut sous le sigle GWAS, sur un grand nombre d'échantillons. Leur utilisation en épidémiologie nécessite la mise en œuvre de tests d'analyse génétique chez un grand nombre de patients ou de sujets témoins dont les résultats seront collectés dans des bases de données en même temps que les résultats des examens biologiques et cliniques nécessaires aux comparaisons génotype-phénotype. De telles études supposent que plusieurs conditions soient remplies : l'accord signé de tous les participants préalablement informés du but de l'étude, la préservation de l'anonymat de manière à ce que les résultats obtenus ne soient pas détournés de leur finalité initiale et, enfin, la double autorisation d'un comité de protection des personnes (CPP) et de la Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés (CNIL). Afin d'augmenter la puissance statistique de ces études, il est souvent utile de réunir les résultats et de croiser les données de plusieurs banques. Cette nouvelle étape demandera une extension de l'autorisation de la CNIL. On doit souligner que la plupart des études scientifiques peuvent être cryptées, les calculs statistiques ne nécessitant pas de connaître l'identité des personnes. Certains imaginent la possibilité de multiplier les génotypes d'une population entière comme cela a déjà été fait en Islande. En France, ce type d'étude pourrait être mené de façon progressive en conservant et en analysant l'ADN des nouveau-nés, à partir des échantillons recueillis en vue des dépistages néonataux.

Un problème particulier reste celui des études du génome sur des tissus ou des cellules déjà prélevés et stockés dans des centres de ressources biologiques. Une telle étude doit normalement avoir été préalablement permise par le donneur qui doit délivrer une autorisation écrite. L'utilisation ultérieure à des fins autres que celles initialement prévues reste soumise, en cas d'étude des caractéristiques génétiques, à une exigence de consentement du donneur. On devrait, cependant, séparer l'étude des mutations somatiques présentes dans des prélèvements tumoraux qui n'ont pas un caractère « identifiant » et doit rester possible, de celle du patrimoine héréditaire qui demande à être strictement encadrée.

Tests effectués dans le cadre de dépistages organisés

En France, les seuls dépistages organisés de maladies héréditaires sont ceux effectués à la naissance. Cinq maladies sont recherchées dont quatre relèvent de mutations : l'hyperphénylalaninémie, l'hyperplasie congénitale des surrénales, la drépanocytose et la mucoviscidose. La cinquième qui est l'hypothyroïdie est rarement d'origine génétique. En

fait, les tests utilisés sont, en première intention, des déterminations biochimiques. L'analyse génétique est faite pour confirmer le diagnostic et caractériser la mutation en cause. La mise en application de ces tests nécessite toujours l'autorisation parentale. En cas de tests positifs, les nouveau-nés seront suivis dans des services spécialisés comme les centres de ressources et de compétence de la mucoviscidose. La question se pose de savoir s'il faut ou non informer les parents de la découverte du statut d'hétérozygote chez un nouveau-né, comme ce peut être le cas dans la mucoviscidose et la drépanocytose où le phénotype s'exprime seulement si les deux allèles sont porteurs de la mutation. Cette information reste utile aux parents qui apprennent que l'un, au moins, d'entre eux est lui-même hétérozygote. Le même problème se retrouve en cas d'enquête familiale. Le dépistage de la maladie chez les proches pose des problèmes éthiques qui ont été largement discutés. D'une part, le fait de savoir être porteur de la mutation permet le conseil génétique avant procréation et le diagnostic prénatal en cas de grossesse. D'autre part, l'annonce à un sujet sain qu'il est porteur d'une mutation sans conséquences pour lui, mais transmissible à sa descendance et cause possible de maladie pour une partie d'entre elle, génère anxiété et parfois sentiment de culpabilité, alors que, vu la prévalence de la mutation du gène CFTR dans la population, le risque de donner naissance à un enfant atteint en l'absence d'investigation génétique du conjoint, reste inférieur à 1%. L'extension du dépistage néonatal à d'autres maladies s'est posée avec la mise au point de la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS) qui permet d'identifier un grand nombre de maladies métaboliques. En revanche, de nouveaux dépistages néonataux systématiques reposant sur l'analyse génétique n'ont pas été proposés parce qu'ils ne réunissent pas les critères nécessaires à leur mise en application tels qu'ils ont été définis par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS).

Les progrès techniques venant d'une plus large application de l'analyse pan génomique font poser la question de l'opportunité de dépistages systématiques de prédispositions individuelles au sein d'une population. Dans l'immense majorité des cas, l'utilité de tels dépistages est illusoire. La découverte d'un marqueur de risque (habituellement un polymorphisme portant sur un seul nucléotide) n'indique qu'un risque relatif très faible, souvent inférieur à 1,5. La plupart des maladies communes relèvent de l'addition de multiples facteurs de risque dont ceux liés à l'environnement sont souvent prépondérants. Il serait donc nécessaire de rassembler les résultats afin d'accroître la puissance statistique. La seule exception envisageable concerne les données de la pharmacogénétique. On peut prévoir qu'avec le développement des techniques, des puces à ADN permettront le génotypage d'un grand nombre de polymorphismes, en particulier ceux présents dans les gènes de la famille des cytochromes P 450, à des coûts relativement bas. Les renseignements obtenus, rassemblés sur des cartes individuelles informatisées, pourraient être utiles tout au long de la vie pour choisir au mieux les traitements et ajuster leur posologie. Cela supposerait l'entrée de ces tests dans la nomenclature des actes remboursables par l'assurance maladie.

Tests prescrits par les autorités judiciaires

Ces tests génétiques sont utilisés pour identifier des suspects ou des victimes à partir des tissus biologiques retrouvés ou des cadavres et pour établir des liens de filiation. De nombreux pays sont dotés d'une banque de données stockant les empreintes génétiques de délinquants ou de suspects. C'est le cas de la France avec le Fichier National Automatisé d'Empreintes Génétiques (FNAEG). Créé en 2003, il rassemble actuellement plus de 500.000 profils génétiques. Il permet de croiser les informations recueillies avec les identités recensées. Au Royaume Uni, environ 3,5 millions de profils sont enregistrés et 8 à 10 mille rapprochements par an sont effectués. Les analyses génétiques prescrites par les autorités judiciaires concernent les enquêtes criminelles en droit pénal et les tests de filiation en droit pénal et civil. Dans les enquêtes judiciaires criminelles, notamment celles qui concernent les actes de terrorisme, les homicides, les agressions sexuelles et les vols à main armée, tout objet supportant un tissu biologique peut être analysé. Le principe de l'analyse consiste à comparer une empreinte génétique relevée sur le lieu d'un crime avec celle d'un individu (suspect), de

la victime, ou bien celles contenues dans une banque de données. La conclusion est, soit le rejet d'identité qui est absolu, soit la haute probabilité d'identité qui dépend du nombre de marqueurs examinés. L'examen de l'ADN d'un cadavre, lorsqu'il est possible, peut l'identifier, par comparaison avec l'ADN de membres de la famille ou de celui contenu dans une base de données. En matière civile, les tests de paternité sont basés sur la comparaison des microsatellites de l'allèle paternel avec ceux observés chez l'enfant. Là aussi, le rejet est absolu et la probabilité de paternité quasi certaine lorsqu'on a étudié les 16 marqueurs disponibles dans les trousseaux commerciaux. Les analyses génétiques à des fins judiciaires sont subordonnées à la demande d'un magistrat, dans le cadre de procédures spécifiques, et sont également effectuées dans des laboratoires agréés, sous la responsabilité d'un expert judiciaire inscrit sur les listes des cours d'appel ou agréé par la Cour de Cassation. Les tests de filiation sont exceptionnellement réalisés *post mortem* en dehors des études historiques, comme celle récente sur l'identification des restes de la famille impériale de Russie. A l'origine de ces actions, on trouve soit le désir de mieux préciser son identité personnelle en la rattachant à des ascendants connus, soit des raisons purement financières pour ne pas être privé d'un héritage. Le domaine administratif fait appel aux analyses génétiques dans plusieurs pays de l'Union européenne. L'objectif est de vérifier la filiation à l'occasion d'une demande de regroupement familial lors d'une immigration. Les tests sont volontaires. En France, un projet de loi semblable, après avoir suscité une vive émotion, a entraîné la saisine d'urgence du CCNE avec avis rendu le jeudi 4 octobre 2007. Il a été adopté par le parlement avec de nombreux aménagements ; mais, ses difficultés d'application font penser que la loi pourrait être abandonnée. Une des raisons invoquées pour rejeter de tels tests est que la filiation en France relève d'un état de fait (« la possession d'état ») plus que d'une ascendance biologique.

B- QUESTIONS POSEES PAR L'ENSEMBLE DE CES TESTS ET PERSPECTIVES ACTUELLES

Validation des tests génétiques

Les tests génétiques doivent remplir des conditions d'assurance qualité. En France, les praticiens les réalisant et les laboratoires où ils travaillent doivent être agréés. Ces agréments peuvent concerner la totalité des tests génétiques ou être limités à certains d'entre eux. La loi distingue l'étape de l'agrément donné par l'Agence de la biomédecine et l'autorisation qui dépend de l'Agence régionale d'hospitalisation. Concernant les trousseaux mis sur le marché, leur utilisation relève du code de la santé publique et de ses dispositions relatives aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*. Leur mise sur le marché est soumise à l'obtention du marquage CE. Il s'agit là uniquement des qualités techniques du test, mais non de sa validité clinique, c'est-à-dire de l'évaluation du service rendu au patient. Celui-ci doit être informé de la fiabilité et de la qualité de l'information donnée par ces tests. Le CCNE insiste bien sur le fait que leur pratique injustifiée risque de conforter l'idée illusoire d'un déterminisme génétique.

Conseil génétique et information de la parentèle

Le conseil génétique a pour objet d'informer un couple dont un ou les deux partenaires sont porteurs de mutations connues, des risques de donner naissance à un enfant atteint d'une maladie héréditaire. On doit leur fournir une information précise sur la nature de la maladie, son caractère d'association ou non au sexe et le risque de transmission de la mutation à leur descendance si les enfants à naître sont des porteurs sains hétérozygotes. Les informations données peuvent conduire à poser la question, en cas de grossesse, d'un diagnostic prénatal et, plus rarement, préimplantatoire.

L'information de la parentèle demande à concilier le respect du secret médical avec l'obligation d'éviter à autrui un risque connu. La question est facilement résolue lorsque le

malade accepte d'informer sa parentèle du caractère héréditaire de la maladie. Il est préférable, dans ce cas, que l'information soit fournie avec le concours du médecin qui précisera la nature et la gravité du risque et saura faire la part des certitudes et des probabilités en essayant d'éviter que l'information donnée soit source d'anxiété et, au pire, d'un sentiment de culpabilité. Le problème est plus complexe lorsque le malade refuse que l'information soit communiquée à la famille ou est dans l'incapacité de le faire, surtout lorsque cette information peut conduire à des mesures de prévention ou de soins. Dans ce cas, la législation a prévu une « procédure d'information médicale à caractère familial » avec l'autorisation du malade concerné. Le malade communique au médecin la liste des personnes de la famille à contacter qui l'adresse à l'Agence de la biomédecine laquelle informe les apparentés. La question du malade qui refuse toute communication directe ou indirecte pose le problème de sa responsabilité vis-à-vis d'autrui lorsque celui-ci a été victime d'une « perte de chance ».

Interdiction d'utiliser les tests génétiques à des fins discriminatoires.

Les résultats de tests génétiques pourraient être considérés utiles à l'employeur pour décider d'une embauche ou rendre compatible le poste de travail avec l'état de santé et à l'assureur pour décider de couvrir ou non un risque et fixer le montant de la police. Il est évident que ce type de renseignement ne sera pas fourni par le médecin traitant dans le respect du secret médical. Il y a peu de circonstances où une information génétique est utile à l'employeur, et il n'est pas acceptable que des personnes soient exclues de divers types d'emploi à la suite d'information sur leurs caractéristiques génétiques. Lorsqu'un test génétique est considéré comme pouvant protéger un salarié d'un danger spécifique au travail envisagé, le salarié doit en être informé et donner son consentement à la réalisation du test. Il serait souhaitable qu'une agence indépendante de l'employeur décide de l'opportunité du test et en remette les résultats au salarié qui pourra les tenir secrets. Concernant l'assurance, il est difficile, à l'exception de certaines maladies monogéniques, d'évaluer jusqu'à quel point des tests génétiques sont pertinents pour apprécier l'état de santé d'une personne et leur caractère prédictif à un terme souvent inconnu. Les modèles développés par les actuaires sont fragiles et leurs résultats sont peu probants. De tels tests ne doivent pas être imposés à l'assuré avant la signature du contrat et beaucoup de pays dont la France, interdisent d'utiliser le résultat d'un test existant. On peut d'ailleurs estimer qu'au vu de la diversité génétique de la population, l'assureur doit assumer les risques provenant de sujets plus susceptibles de contracter des maladies graves puisqu'il bénéficie, à l'inverse, de l'absence ou du faible degré de risque chez les sujets « génétiquement protégés ».

Tests génétiques en libre accès réalisés pour convenance personnelle

En plus des tests d'analyse génétique respectant les conditions légales qui viennent d'être examinés, on constate le développement de tests effectués pour convenance personnelle en réponse aux offres présentes sur internet. Ces offres sont, en général d'un coût modéré lorsque l'urgence n'est pas réclamée, et nécessitent seulement l'envoi par la poste d'un prélèvement biologique provenant de la personne à tester. Trois types de motifs sont habituellement à l'origine de telles demandes : 1- tests de paternité provenant de pères soucieux de vérifier qu'un des enfants du couple est bien le leur ; 2- tests de susceptibilité à être atteint de maladies données ; 3- tests effectués en vue d'établir une appartenance ethnique. De nombreuses firmes apparaissent sur internet. Aux Etats-Unis, par exemple, « *23andme* » étudie les prédispositions aux maladies courantes. Plus récemment, mais pour un coût nettement plus élevé, une autre société « *Knome* » réalise le séquençage complet du génome en signalant les risques et les avantages attachés à tel ou tel polymorphisme. Plus récemment encore, « *Illumina* » s'est lancée sur ce marché et propose pour un coût de 48.000 dollars ce même séquençage avec une garantie de qualité et commentaire de la séquence par des spécialistes avant communication des données au seul médecin. En Islande où des études du

génomique ont été effectués chez tous les résidants, « *deCODE Genetics* » propose ses services pour renseigner sur ses ancêtres et ses caractères héréditaires. Avec les progrès techniques, le champ de ces demandes ne peut que s'étendre, par exemple au diagnostic prénatal, lorsque l'isolement des cellules fœtales du sang maternel deviendra pratique courante.

Les tests de paternité effectués par ces firmes privées suite à des demandes individuelles ont une valeur juridique nulle ; mais leurs conséquences sur la vie familiale peuvent être lourdes en incitant les pères présumés à engager des actions en désaveu de paternité.

Les tests de susceptibilité ne présentent actuellement aucun intérêt clinique malgré les progrès techniques récents comme les études pangénomiques et les séquençages complets. En terme d'épidémiologie génétique ces marqueurs de susceptibilité, pour être utiles, devraient répondre à cinq critères : 1- correspondre à une forte association avec la maladie; 2- discriminer entre les individus qui vont développer la maladie et ceux qui resteront indemnes, ces propriétés discriminatoires étant essentiellement la sensibilité, la spécificité, les valeurs prédictives positives et négatives ; 3- améliorer la prédiction par rapport aux paramètres biologiques habituels, ce qui n'est pas le cas, par exemple, pour les obèses possédant certains variants des gènes PPAR et CAPN 10 qui ont un risque plus élevé de développer un diabète de type II , mais sans que ces éléments apportent plus d'information que la glycémie et l'indice de masse corporelle; 4- conduire à modifier la prise en charge des sujets à risque et à proposer des stratégies préventives à efficacité démontrée, et ceci dans des conditions financières compatibles avec la politique de santé publique. Chaque SNP correspondant à un facteur de risque faible (inférieur à 1,5) il faudrait en fait 100 SNP pour avoir une bonne capacité discriminatoire, tout en sachant que les facteurs génétiques sont potentiellement modulables par d'autres facteurs génétiques ou environnementaux. L'intérêt pratique de la recherche de ces marqueurs reste donc très limité et on ne peut que décourager ceux qui penseraient ainsi pouvoir prédire leur avenir médical. Cependant, avec le progrès des techniques, il se peut que dans un avenir pas trop éloigné la séquence individuelle d'ADN soit inscrite sur un support informatique à type de carte en espérant que sa consultation apporte un complément d'informations utiles, en particulier dans le choix des médicaments.

On trouve également sur internet des propositions permettant de mieux connaître ses ancêtres. C'est le cas, notamment, pour les afro-américains qui peuvent ainsi apprendre de quelle région d'Afrique ils sont originaires ou encore leur lien de parenté avec des américains célèbres ayant eu des enfants avec leur domesticité.

IV- CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS

De nombreuses institutions françaises (Conseil d'Etat, CCNE, Conseil National de l'Ordre des Médecins, INSERM...) et communautaires (Conseil de l'Europe, OCDE, UNESCO...) se sont penchées sur les questions posées par la diffusion des tests génétiques. Toutes partent d'un constat commun : les progrès techniques en génétique, la diminution du coût des examens, les facilités de communication et le désir croissant des individus de mieux connaître leurs origines et leur avenir font qu'il est illusoire de s'opposer à la diffusion des tests génétiques et à un marché en pleine expansion. On ne peut qu'encadrer, informer et faire en sorte que l'anonymat et la volonté des personnes soient respectés au maximum. La révision des lois de bioéthique devrait permettre d'adapter la législation aux évolutions des techniques et de la société. L'Académie nationale de médecine approuve dans son ensemble les recommandations élaborées par les différentes instances citées plus haut. Nous nous limiterons ici à souligner et préciser quelques unes d'entre elles :

1- Renforcer l'information des médecins sur les indications des tests génétiques effectués à des fins médicales et promouvoir auprès du public des campagnes médiatiques d'information.

Tout test génétique doit avoir une utilité clinique validée par des études sérieuses et concordantes préalablement à sa mise sur le marché ou son remboursement par l'assurance maladie. Son utilisation impose un suivi médical, le médecin ayant l'obligation d'informer le patient sur la signification et les limites des résultats donnés.

2- Insister sur la nécessité des consultations génétiques spécialisées tenues par des équipes multidisciplinaires (cliniciens et généticiens) pour le premier entretien et le suivi des malades

Ces consultations doivent être assurées par des médecins expérimentés qui seuls sont à même de fournir au malade et à sa famille des informations personnalisées soulignant le caractère le plus souvent aléatoire du risque et de donner les conseils appropriés en évitant de faire naître tous sentiments d'anxiété et culpabilité.

3- Mettre en garde le public vis-à-vis des tests de convenance personnelle tels qu'ils sont proposés actuellement par des sociétés commerciales

Les renseignements fournis ont une valeur prédictive faible ou nulle, même s'ils sont accompagnés de commentaires médicaux.

4- Demander une harmonisation au plan européen des conditions de contrôle de l'ensemble des laboratoires afin qu'ils obéissent tous à des exigences communes de qualité technique.

La standardisation technique fait en effet cruellement défaut. Le contrôle de qualité de certains laboratoires a mis en évidence un pourcentage trop élevé d'erreurs. Un réseau européen, EuroGentest, en coopération avec Orphanet, s'attache au développement et à l'harmonisation des tests, à leur standardisation, à l'accréditation des laboratoires (mise en place d'une norme ISO en 2001). Le processus d'accréditation est initié en France et sera obligatoire en 2016. Il a pour but de créer un réseau d'excellence en organisant, notamment, la formation des professionnels médicaux et techniques et l'information du public. Les réglementations devront évoluer avec les progrès techniques, scientifiques et médicaux.

5- Demander aux pouvoirs publics de définir une position vis-à-vis des demandes de tests de paternités effectués à l'étranger

On doit attirer l'attention de l'opinion sur les erreurs possibles d'analyses provenant de laboratoires peu ou pas contrôlés et sur la nécessité de faire confiance uniquement aux laboratoires français ayant l'agrément des autorités de tutelle

6- Encadrer la création de biobanques privées réunissant les résultats obtenus chez les malades examinés.

On doit insister sur le fait qu'à l'inverse des données biochimiques, les analyses de l'ADN ont un caractère identifiant. La confidentialité doit donc être exigée avec interdiction de la divulgation ou de la vente des fichiers constitués.

7- Définir régulièrement quels tests doivent être remboursés par l'assurance maladie et garantir un accès égalitaire à ces tests. Au vu de la rapide évolution des connaissances, la nomenclature des actes remboursables doit faire l'objet de révisions fréquentes.

Le remboursement des tests est très variable selon les pays. En Belgique et en Hollande, il n'est pratiqué que si le test est effectué dans des Centres experts, où la valeur des informations cliniques recueillies, la qualité du laboratoire et celle de la recherche qui y est effectuée ont été reconnues. En Allemagne, c'est l'assureur qui décide. En France, si les pouvoirs publics financent l'activité des laboratoires agréés de génétique moléculaire dans les centres hospitaliers, peu

d'actes effectués dans le secteur privé sont remboursés par l'assurance maladie alors qu'en particulier, ceux relatifs à la pharmacogénétique connaissent un essor important. Une médecine à deux vitesses risque donc de se développer.

8- Maintenir la réglementation actuelle en matière d'assurance décès et de droit du travail

L'assureur en matière d'assurance couvrant les risques d'invalidité et de décès a la possibilité de s'informer des antécédents familiaux et de l'existence de maladies exprimées cliniquement, mais non d'exiger la réalisation de tests d'analyse génétique. Même si l'assurance n'a pas pour objet de couvrir des risques jugés inéluctables, il serait dommageable de modifier la situation actuelle. De même, en matière d'embauche, toute discrimination basée sur les résultats d'analyse génétique doit rester interdite.

V- BIBLIOGRAPHIE GENERALE

Ardailou R, Le Gall JY. Le dépistage néonatal généralisé par des tests d'analyse biologique. Bull. Acad. Natle Med. 2006 ; 190 : 1745-1760.

Bourel M, Ardailou R. Pharmacogénétique et pharmacogénomique. Bull. Acad. Natle Med. 2006 ; 190 : 9-24.

Cabanis A, Le Gall JY, Ardailou R. Identification des personnes par des analyses biométriques et génétiques. Bull. Acad. Natle Med. 2007 ; 191 : 1779-1782.

Cambon-Thomsen A. L'information génétique dans la société de l'information. Revue politique et parlementaire. 2009 ; N° 1050.

Comité consultatif national d'éthique pour les sciences de la vie et de la santé. Avis 76. A propos de l'obligation d'information génétique familiale en cas de nécessité médicale. 24 avril 2003. En ligne dans : www.ccne-ethique.fr

Comité consultatif national d'éthique pour les sciences de la vie et de la santé. Avis 86. Problèmes posés par la commercialisation d'autotests permettant le dépistage de l'infection VIH et le diagnostic de maladies génétiques. En ligne dans: www.ccne-ethique.fr

Comité consultatif national d'éthique pour les sciences de la vie et de la santé. Avis 97. Questions éthiques posées par la délivrance de l'information génétique néonatale à l'occasion

du dépistage de maladies génétiques (exemples de la mucoviscidose et de la drépanocytose). 11 janvier 2007. En ligne dans : www.ccne-ethique.fr

Comité consultatif national d'éthique pour les sciences de la vie et de la santé. Avis 100. Migration, filiation et identification par empreintes génétiques. 4 octobre 2007. En ligne dans : www.ccne-ethique.fr

Commission européenne. 25 recommandations sur les implications éthiques, juridiques et sociales des tests génétiques. Bruxelles. 2004. En ligne dans : http://ec.europa.eu/research/conferences/2004/genetic/report_en.htm

Conseil d'Etat. Révision des lois de bioéthique. Quatrième partie : examen des caractéristiques génétiques : respecter la volonté des personnes et renforcer leur information. ; 2009. En ligne dans : www.conseil-etat.fr

Conseil National de l'Ordre des Médecins. Tests génétiques à des fins médicales : la fin de l'innocence. Journée d'éthique. 22 janvier 2009.

Genetic information and testing in insurance and employment: technical, social and ethical issues. Recommendations of the European Society of Human Genetics. *European Journal of Human Genetics*. 2003; 11, Suppl 2: S11–S12.

Goldstein D. Common genetic variation and human traits. *New Engl J Med*. 2009; 360: 1696-1698.

Hardy J, Singleton A. Genomewide association studies and human disease. *New Engl J Med*. 2009; 360; 1759-1768.

Hauw JJ, Ardaillou R. Modifications à apporter à la législation sur les centres de ressource biologique. *Bull Acad Natle Med*. 2009 ; 193 : 729-738.

Hirschorn JN. Genomewide association studies – Illuminating biological pathways. *New Engl J Med*. 2009; 367: 1699-170.

Inserm. Tests génétiques. Questions scientifiques, médicales et sociétales. Expertise collective. Jouve, Paris. 2008.

Jordan B. Chroniques génomiques : le déclin de l'empire des GWAs. *Med. Sci*. 2009 ; 25 : 537-539.

Jordan B. Chroniques génomiques : chacun sa séquence ! *Med. Sci*. 2009 ; 25 : 647-648.

Kaplan JC, Delpéch M. *Biologie moléculaire et médecine*. Flammarion Médecine- Sciences. Paris, 2007.

PERSONNALITES AUDITIONNEES

- Anne Cambon-Thomsen, Directrice de recherches au CNRS, UMR Inserm 558, Université -
- Paul Sabatier, Toulouse.
- Florent Soubrier, Professeur à l'Université Pierre et Marie Curie, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris.
- David Tregouët, Docteur en sciences mathématiques, biostatisticien, Inserm U 937, Paris
- Ségolène Aymé, Directeur de recherches à l'Inserm, Orphanet, Inserm SC11, Hôpital Broussais, Paris
- Laurent Degos, Directeur de la Haute Autorité de Santé, St Denis La Plaine
- Didier Sicard, ancien président du Comité Consultatif National d'Ethique, Paris
- Christian Bréchet, ancien directeur général de l'Inserm, Mérieux Alliance, Lyon
- Thomas Bourgeron, Directeur de recherches, Institut Pasteur, Paris
- Marc Delpech, professeur à l'Université Paris Descartes, Hôpital Cochin et Inserm U 567, Paris
- Jean-Jacques Cassiman, Center for human genetics, Louvain, Belgique
- Jean-Louis Mandel, professeur au Collège de France, Strasbourg
- Dominique Stoppa-Lyonnet, professeur à l'Université Paris Descartes, Institut Curie, Paris
- Philippe Beaune, Chef du service de biochimie, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris