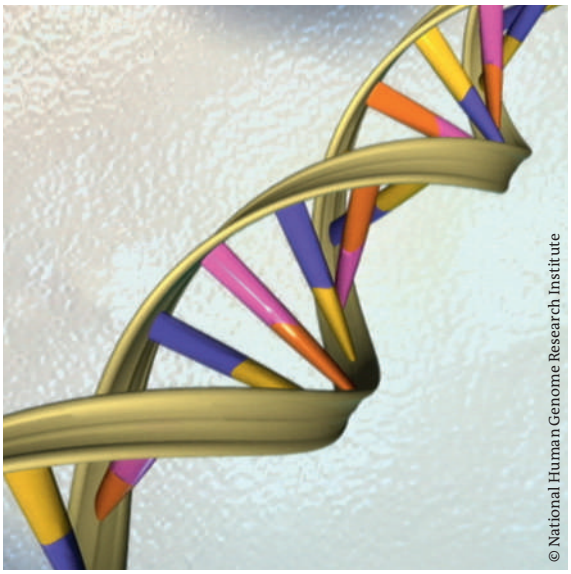
Génétique médicale

Une nouvelle ère du diagnostic génétique – et pas seulement pour les maladies rares

Anita Rauch

Institut für Medizinische Genetik, Universität Zürich

Si l'on écoute les croyances populaires, nous y voilà enfin: le «génome à 1000 dollars». Le génome individuel donc, qui promet un éclairage sur les antécédents médicaux pour une bouchée de pain. Dans cet article, nous expliquons, pourquoi il n'en est pas ainsi, mais qu'en revanche nous entrons dans une nouvelle ère prometteuse dans le domaine du diagnostic génétique.



© National Human Genome Research Institute

Séquençage à haut débit

En principe, les dernières techniques de séquençage à haut débit (NGS ou *«next generation sequencing»*) permettent désormais en effet, pour un coût maîtrisé, de séquencer un génome individuel selon sa séquence de bases. L'interprétation de la séquence de bases individuelle, qui varie de plusieurs millions de positions d'un individu à l'autre, est tout sauf triviale et requiert, malgré des outils bio-informatiques de plus en plus performants, un investissement considérable de la part des spécialistes en génétique médicale. En ce qui concerne les maladies génétiques multifactorielles fréquentes, il n'existe à ce jour que quelques variantes génétiques ayant association forte permettant une évaluation individuelle du risque, comme dans le cas de la maladie d'Alzheimer ou la cécité liée à l'âge.

A ce jour, c'est principalement aux mutations rares avec un effet important conduisant à des maladies génétiques héréditaires classiques qu'est accordée une haute valeur prédictive. Malgré le caractère rare de ces diverses entités, il est question d'une importance cumulative tout à fait pertinente sur le plan médical. En effet, selon les estimations actuelles, 7,2% de la population suisse est atteinte de l'une des env. 6000 différentes maladies rares [1]. Et c'est justement pour ces maladies, jusqu'à présent souvent négligées, que nous entrons effectivement dans une nouvelle ère. Les patients atteints d'une maladie rare traversent souvent une odyssée diagnostique, résultant en un piétinement dans la gestion de la maladie et dans la prise en charge basée sur les preuves. Ceci d'une part parce que les personnes concernées ne se sont jamais ou tardivement adressées au spécialiste correspondant, et d'autre part parce que le tableau symptomatique n'est souvent pas assez spécifique pour identifier une entité nosologique distincte sans test génétique. Jusqu'à présent, les tests génétiques diagnostics basés sur les méthodes classiques de génétique moléculaire étaient difficiles à mettre en œuvre pour une grande partie des questions diagnostiques. D'une part parce que sur la liste même des analyses figurent souvent des tests obligatoires que les assureurs et médecins-conseil considèrent comme étant non économiques, et d'autre part parce que de nombreuses manifestations cliniques peuvent être causées par une multitude de défauts génétiques différents. Ce défi qui était quasi insurmontable pour les maladies mendéliennes est aujourd'hui rendu possible grâce au séquençage à haut débit. Pour un coût abordable et dans un délai raisonnable.

Le concept national voté par le Conseil fédéral à la mi-octobre «Vers un soutien accru aux personnes souffrant de maladies rares» [1] laisse espérer une amélioration au niveau de tous les intérêts des patients concernés. La révision de la liste des analyses, qui a

Anita Rauch

eu lieu en début de cette année 2015, tient compte des nouvelles possibilités diagnostiques désormais disponibles. Pour la première fois dans le chapitre génétique de la liste des analyses, il est possible, grâce au NGS, d'étudier un grand nombre de gènes en vue du diagnostic différentiel d'une maladie monogénique. Les coûts engendrés par l'analyse d'un très grand nombre de gènes par séquençage à haut débit seront comparables à ceux engendrés par les analyses d'une ou plusieurs gènes de grande taille en utilisant la méthode de séquençage séquentielle de Sanger, soit environ 3000 à 5000 CHF.

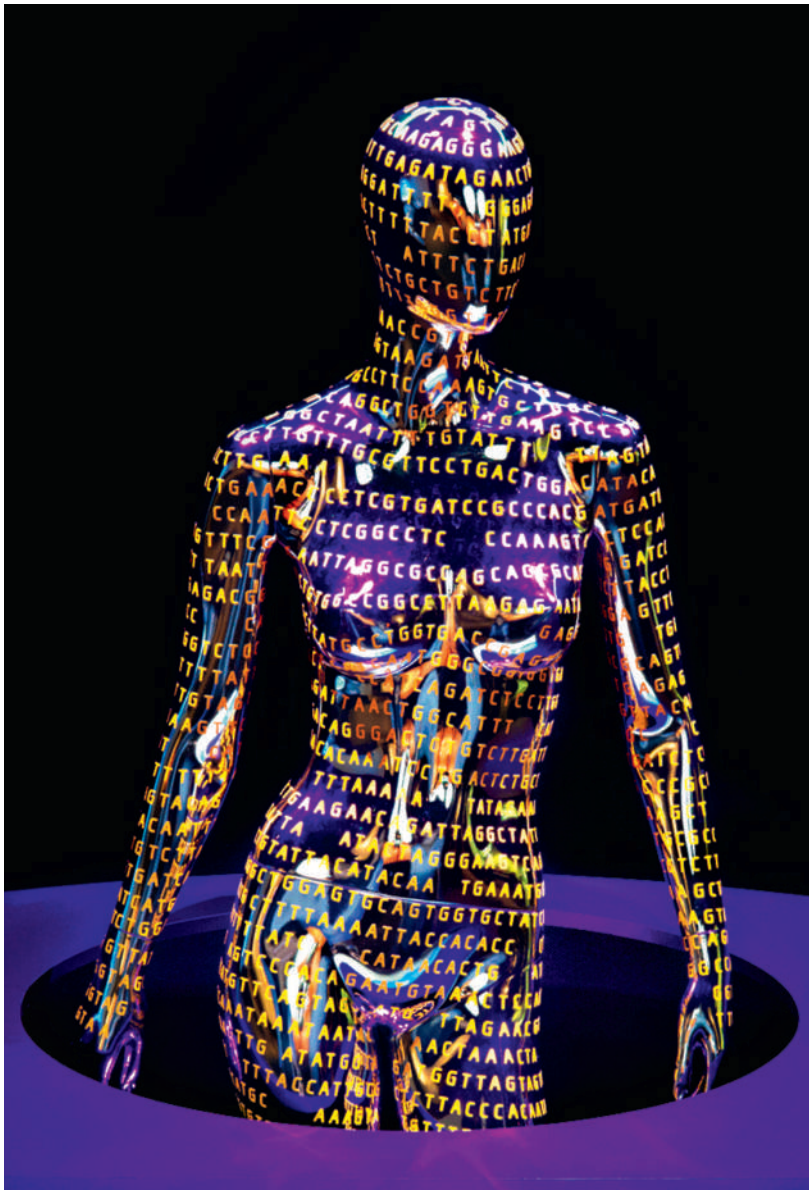


Figure 1: «Genome: Unlocking Life's Code» issu de l'exposition de l'Institution Smithsonian, the National Museum of Natural History, Washington. Photo de Donald E. Hurlbert et James Di Loreto. Reproduit avec l'aimable autorisation du National Museum of Natural History, Washington D.C.

L'analyse par séquençage à haut débit – tout comme l'imagerie ou l'histologie moderne – deviendra sans aucun doute très rapidement un outil essentiel dans le diagnostic différentiel. Etant donné que, d'une part, des tests génétiques très spécifiques non-NGS sont nécessaires pour répondre à des problématiques précises et que les tests génétiques portant sur un gène unique demeurent plus économiques pour confirmer un diagnostic simple identifié en un coup d'œil par un spécialiste, et que, d'autre part, la probabilité de détection de variantes indéterminées augmente dans l'analyse d'une multitude de gènes, l'évaluation clinique et l'interprétation diagnostique par un expert en génétique clinique avant et après la réalisation de tests génétiques reste un aspect essentiel faisant partie intégrante du procédé diagnostique. Cet aspect sera intégré dans la liste des analyses, où il sera indiqué que les analyses par séquençage à haut débit portant sur plus de 10 gènes ne pourront être prescrites que par des médecins titulaires d'un titre FMH en médecine génétique.

La réalisation de tests génétiques par NGS pour répondre à une problématique diagnostique n'est en aucun cas triviale et ces tests doivent par conséquent être uniquement réalisés dans des laboratoires disposant d'une vaste expérience, également dans le domaine du diagnostic génétique classique, et dont la qualité est suivie et reconnue. Outre l'interprétation correcte, la génération des données requiert aussi une certaine expertise. Jusqu'à présent, les procédés techniques et bio-informatiques généraux sont peu standardisés et comportent le risque d'obtenir des faux-négatifs ou faux-positifs systématiques. Par ailleurs, ce que l'on appelle la profondeur du séquençage joue également un rôle majeur. Ainsi, il ne suffit pas qu'une section génétique précise soit séquencée une ou deux fois seulement pour mettre en évidence une mutation hétérozygote présente sur une unique copie génétique. Etant donné que la cinétique du séquençage varie au sein des sections génomiques en fonction de leur composition, une profondeur de séquençage moyenne relativement élevée est nécessaire pour pouvoir identifier la séquence-cible de manière relativement fiable et complète. Ainsi, dans le séquençage complet du génome par exemple, une profondeur de séquençage moyenne de 45 à 87× permet d'identifier seulement 86 à 95% des variantes hétérozygotes [2] (soulignons que le «génome à 1000 dollars» obtient une profondeur de séquençage de 30× seulement). Par conséquent, le séquençage à haut débit du génome complet est actuellement appliqué seulement dans un cadre de recherche. En ce qui concerne les questions diagnostiques effectuées dans un cadre clinique, le séquen-

çage à haut débit est appliqué en effectuant l'analyse de gènes qui ont été soigneusement sélectionnés suivant le tableau clinique du patient.

La grande majorité de notre génome est composée de séquences dont nous commençons à peine à saisir la signification. Seuls environ 2% des à peu près trois milliards de paires de bases constituent nos gènes et sont utilisés pour assembler l'ARN fonctionnel et nos protéines. Aussi, nos connaissances sur la relation entre les mutations et la manifestation d'une maladie sont principalement axées sur les défauts parmi les plus de 21 000 gènes – toutefois, nous ne connaissons actuellement que le lien de 5000 gènes avec une maladie, même si de nouvelles entités pathologiques génétiquement déterminées sont élucidées presque tous les jours. Ainsi, il est également très pratique et économique de se limiter pour le moment, dans le séquençage de «l'ensemble» du génome, à ces sections génétiques, c'est-à-dire à ce que l'on appelle notre «exome». Cela permet par exemple d'établir un diagnostic étiologique chez plus de 50% des patients présentant une déficience mentale profonde cliniquement non spécifique [3]. Dans le cas de maladies telles que des cancers héréditaires par exemple, pour lesquelles seulement peu de gènes ont pu être identifiés à ce jour mais dont le diagnostic implique des conséquences thérapeutiques, la limitation à un faible nombre de gènes peut également avoir son utilité. Selon les systèmes de concentration et de séquençage utilisés, il est possible d'améliorer la rapidité et la fiabilité diagnostique des analyses par rapport à un séquençage de l'exome. Dans le cas de maladies très hétérogènes avec un grand nombre, sans cesse croissant, de gènes potentiellement impliqués, le séquençage de l'exome, avec la possibilité d'une analyse ultérieure de nouveaux gènes, est cependant une approche plus précise que l'analyse d'un nombre limité de gènes.

L'expertise en médecine génétique des spécialistes FMH en génétique médicale deviendra par conséquent indispensable pour que l'utilisation du séquençage à haut débit dans un cadre clinique soit effectuée en respectant les intérêts et les besoins des patients. J'ai récemment été mise à contribution dans un cas regrettable où les spécialistes cliniques étaient parvenus à une hypothèse totalement erronée quant à la maladie sous-jacente et aux risques de récidive dans la famille parce qu'ils pensaient que les analyses ADN disponibles dans les centres internationaux de séquençage du génome rendaient l'expertise spécifique à la génétique médicale superflue.

Entre les mains critiques des spécialistes, les nouveaux tests génétiques par NGS apporteront sans nul doute une avancée considérable dans le diagnostic des maladies génétiques et constituent le fondement d'une véritable nouvelle ère de diagnostics et de traitements individualisés basés sur les preuves.

Correspondance:
Prof. Anita Rauch
Universität Zürich
Wagistrasse 12
CH-8952 Schlieren
anita.rauch[at]medgen.uzh.ch

Remerciements
L'auteure remercie Dr Siv Fokstuen, Université Genève, pour la lecture du texte français.

Conflits d'intérêts
L'auteure ne déclare aucun conflit d'intérêt financierou personnel en rapport avec cet article.

Références
1 https://www.news.admin.ch/message/index.html?lang=fr&msg-id=54817
2 Drmanac R, Sparks AB, Callow MJ, Halpern AL, Burns NL, Kermani BG, et al. Human genome sequencing using unchained base reads on self-assembling DNA nanoarrays. Science. 2010 Jan 1;327(5961):78–81.
3 Rauch A, Wieczorek D, Graf E, Wieland T, Endele S, Schwarzmayr T, et al. Range of genetic mutations associated with severe non-syndromic sporadic intellectual disability: an exome sequencing study. Lancet. 2012 Nov 10;380(9854): 1674–82.