



UNIVERSITE Félix Houphouet BOIGNY
COCODY-ABIDJAN



UFR BIOSCIENCES
LABORATOIRE DE GENETIQUE

COURS MAGISTRAUX M1 DE GENETIQUE

UNITE D'ENSEIGNEMENT GENE 2113

Master 1 DE GENETIQUE

Génétique Humaine

Responsable de l'UE (Unité d'Enseignement) :

Dr COULIBALY Fougotin Hamidou

Spécialités : *Génétique Humaine*
Biologie de la Procréation
Cytogénétique
Spermiologie
Essais Cliniques

Site web : www.criafrique.net

E-mail : info@criafrique.net

PLAN DU COURS :

GENETIQUE HUMAINE

INTRODUCTION

I) HEREDITE HUMAINE

Hérédité reliée aux gènes ou aux super-gènes autosomiques:

Hérédité reliée au chromosome sexuel :

Hérédité des mutations de chromosomes (aberrations chromosomiques) :

1.1.) Nomenclature, vocabulaire et analyse des arbres généalogiques

1.1.1 Vocabulaire génétique

1.1.2 Modes héréditaires des maladies génétiques

1.2.) Les modes classiques d'hérédité humaine

1.2.1 Hérédité autosomique dominante (AD):

1.2.2 Hérédité autosomique récessive (AR):

1.2.3. Hérédité dominante liée au chromosome X

1.2.4 Hérédité récessive liée au chromosome X (RLX):

1.3.) Facteurs affectant les modes de transmission

1.3.1. Hétérogénéité génétique

1.3.2. Pénétrance

1.3.3 Expressivité

1.3.4 Homozygotie pour un caractère dominant

1.3.5 Anticipation/ Âge du début de la maladie

1.3.6 Pléiotropie

1.3.7 Interaction des gènes — co-facteurs

1.3.8 Gènes de susceptibilité au cancer et malformations

1.3.9 Hérité multifactorielle

1.4.) Modes non classiques d'hérédité humaine

1.4.1. Hérité mitochondriale

1.4.2. Mosaïque germinale

1.4.3 Empreinte parentale ou Empreinte génomique

1.4.4 Disomies Uniparentale (DUP)

1.4.4.1 Mécanismes conduisant aux disomies uniparentales

1.4.4.2-Phénotype non pathologique

II) ANALYSE GENETIQUE

II.1 Techniques d'analyse génétique

II.1.1 Gènes défectueux et maladie génétique

II.1.2 La mutation génétique

II.1.3 Tests génétiques en recherchant des mutations dans un échantillon d'ADN

II.1.4 Tests génétiques à l'aide de l'ADN :

a) Test direct de l'ADN

b) Analyse de liaison

II.1.5 EMPLOI DU TEST DIRET OU DE L'ANALYSE DE LIAISON GENETIQUE

II.1.6 Dépistage génétique de maladies

II.2 Les empreintes génétiques

II.2.1 Minisatellites

II.2.2 RFLP

II.2.3 PUCE d'ADN : Des diagnostics immédiats

II.3 Les marqueurs génétiques

II.3.1 Les Marqueurs moléculaires

II.4 Diagnostic Prénatal

II.4.1 Familles à risque

- a) Age maternel avancé
- b) Récidive des anomalies chromosomiques de nombre et de structure
- c) Syndrome du chromosome X fragile et retard mental
- d) Instabilité chromosomique
- e) Maladies métaboliques héréditaires
- f) Anomalies du tube neural :

II.5 Échographie fœtale

II.6 Techniques de prélèvement de tissus fœtaux

II.6.1. L'amniocentèse

II.6.2. Biopsie chorale ou choriocentèse

II.6.3. Cordocentèse

II.6.4. Fœtoscopie

II.6.5. Cellules fœtales en circulation

II.6.6- Marqueurs sériques maternels

II.6.7 Hybridation in situ en fluorescence (FISH)

II.6.8 Perspectives d'avenir

III) CONSEIL GENETIQUE

III.1 Motifs de demande de conseil génétique

III.1.1 Couple avant procréation

III.1.2 Couple constitué

III.2 Consultation de conseil génétique

III.2.1. Climat d'anxiété.

III.2.2 Arbre généalogique
III.2.3 Diagnostic de l'affection

III.2.4 Le conseil

III.2.5 Evaluation du risque

III.2.6 Rôle des unités de génétique
III.2.7 Corollaires au conseil génétique

CONCLUSION

GENETIQUE HUMAINE

Les lois de la transmission héréditaires des caractères chez l'homme sont celles des espèces diploïdes à reproduction sexuée biparentale. Cependant si ces lois sont universelles, la génétique de l'espèce humaine se distingue par plusieurs particularités.

a) Alors que le généticien expérimentateur peut mutagéniser, entretenir des lignées et planifier des croisements, le généticien humain se contente des mutations spontanées et observe la transmission des caractères dans les familles et les populations ou le libre arbitre préside aux mariages et à la procréation.

b) Beaucoup d'espèces modèles des généticiens ont une fécondité inépuisable ou, si ce n'est pas le cas, les plans de croisement autorisent à regrouper directement les descendances de plusieurs couples. En revanche, les fratries humaines sont souvent de petite ou très petite taille et le mode de recrutement des familles n'autorise pas à effectuer un regroupement automatique des enfants. En contrepartie, plusieurs générations sont souvent observables.

c) Le problème central de la génétique humaine est celui des maladies génétiques. On connaît bien sûr des mutants pathologiques dans les espèces modèles qui offrent des opportunités d'analyse largement exploitées, et l'on ne s'est certes pas limité au répertoire des mutations morbides chez l'homme; il n'en reste pas moins que la génétique humaine reste avant tout médicale. L'une des caractéristiques des maladies génétiques est que, si elles sont fort nombreuses, chacune prise isolément est une rareté, ce qui conduit à ne les observer que dans des familles particulières.

L'approche présentée dans ce cours est celle de la génétique formelle humaine et de ses particularités. Son but est de formaliser le phénomène héréditaire, c'est-à-dire de construire un modèle permettant d'expliquer le lien reliant les caractères des descendants à ceux de leurs parents en prenant en compte le nombre et les modalités de transmission des facteurs sous-jacents responsables de ces caractères et leurs modalités d'expression. Dans la plupart des espèces modèles, cette approche est réalisée en superposant les proportions observées pour les caractères à des proportions statistiques simples, attendues des lois de Mendel et de la théorie chromosomique de l'hérédité. Chez l'homme, les raisonnements génétiques sont évidemment fondés sur les mêmes modèles, mais adaptés à l'analyse de la transmission des caractères dans les familles comportant peu d'individus mais plusieurs générations, le plus souvent en traçant des arbres généalogiques, aussi appelés pedigrees (mot anglais dérivé du français pied de grue, allusion au diagramme ramifié qui évoque son origine).

Après avoir rappelé les grandes lignes des lois de Mendel et des proportions classiques des différents modes héréditaires ainsi que le vocabulaire de la génétique et les règles de la nomenclature chez l'homme, on va s'intéresser donc aux modes héréditaires des maladies génétiques, tels que l'on peut les inférer de l'analyse des pedigrees. Une analyse de la transmission suivra, ayant pour but de confirmer le mode héréditaire et dont l'une des difficultés statistiques tient au mode de recrutement des familles.

En résumé, l'étude de la génétique humaine est difficile pour les différentes raisons suivantes:

- On ne peut imposer un accouplement pour étudier la transmission d'un caractère ;
- La durée d'une génération est longue, le nombre de descendants d'une même famille est faible. Il faut alors réaliser un arbre généalogique et suivre le caractère envisagé sur plusieurs générations ;
- Les études statistiques portent sur plusieurs familles regroupées, de mêmes caractéristiques ;
- Les gènes sont très nombreux.

La démarche à suivre :

- Etablir le **mode de transmission** du gène à partir des données fournies par l'arbre généalogique
- Déterminer le **rapport entre les allèles** : dominant, récessif, codominant
- Déterminer la **localisation du gène**.

I) HEREDITE HUMAINE

Bien que l'étude de l'hérédité qui traite des humains soit plus fastidieuse que celles des plantes ou des animaux, des méthodes permettent d'analyser la descendance des familles. Deux méthodes sont employées, les **biotechniques** et les **pedigrees**. Les pedigrees sont surtout utilisés pour étudier les maladies ou anomalies héréditaires d'une famille. On peut de nos jours, à l'aide des biotechniques savoir si l'on est porteur d'un gène défectueux.

L'hérédité humaine peut se diviser en trois grandes parties :

Hérédité reliée aux gènes ou aux super-gènes autosomiques:

Couleur des yeux, taille, intelligence,...

Hérédité reliée au chromosome sexuel :

Hémophilie, daltonisme,...

Hérédité des mutations de chromosomes (aberrations chromosomiques) :

Mongolisme, bec de lièvre,...

Hérédité reliée aux chromosomes sexuels

Schématiquement, les chromosomes sexuels peuvent être subdivisés en régions d'appariement (homologue) et différentiel. Les régions d'appariement des chromosomes X et Y sont considérés comme homologues. Les régions différentielles portent des gènes qui n'ont pas d'équivalent sur l'autre type de chromosome sexuel. Les gènes dans la région différentielle du X présentent un schéma héréditaire appelé liaison à l'X; ceux de la région différentielle de l'Y présentent une liaison à l'Y. Les gènes dans la région d'appariement présentent ce qu'on pourrait appeler une liaison à l'X et à l'Y. Outre le rôle qu'ils jouent dans la détermination du sexe, les chromosomes sexuels, et en particulier les chromosomes X, portent les gènes de nombreux caractères totalement indépendants du sexe. Chez l'humain, le terme lié au sexe désigne habituellement des caractères portés par le chromosome X. Le père transmet les allèles liés au chromosome X à ses filles mais aucun à ses fils alors que la mère peut transmettre les allèles liés au sexe aussi bien à ses filles qu'à ses fils.

Hérédité relié à l'Y

Lorsqu'un caractère est situé sur le chromosome Y et qu'il n'a pas d'homologue sur le chromosome X, ce caractère ne peut apparaître que chez le mâle, ce caractère est dit holandrique. Un tel caractère ne peut se transmettre que de père en fils.

Exemple : hypertrichose des oreilles, Homme porc-épic

Hérédité reliée à l'X

Un caractère héréditaire peut être relié aux chromosomes X et ne pas avoir d'homologue sur le chromosome Y. Dans un tel cas, une femelle a deux chromosomes portant le caractère et un mâle n'a qu'un chromosome portant le caractère. Un tel caractère peut être dominant ou récessif. S'il est récessif, il sera plus fréquent chez les mâles que chez les femelles. En effet, les femelles doivent recevoir deux allèles récessifs pour avoir la maladie héréditaire alors que le mâle ne doit recevoir qu'un allèle de la mère portant le caractère récessif.

Exemple : hémophilie, daltonisme et myopathie de Duchenne

Hérédité reliée X et Y

Peu d'informations sont connues sur les caractères héréditaires se retrouvant dans cette région. C'est la seule partie commune au X et au Y où il peut avoir des allèles pour les caractères se retrouvant à cet endroit.

Hérédité reliée aux gènes ou aux super-gènes autosomiques

Hérédité reliée aux autosomes

Les gènes autosomiques sont situés sur les 22 paires de chromosomes communs aux deux sexes. Ils sont très nombreux, plusieurs centaines de mille : couleur des yeux, forme des cheveux, groupes sanguins... Quelques-uns de ces gènes portent des défauts héréditaires comme l'albinisme, la brachydactylie...

Hérédité relié aux super-gènes

Lorsqu'un caractère héréditaire n'est pas lié à un seul gène, mais à plusieurs, c'est une hérédité que l'on pourrait souvent qualifier de cumulative. Plus il y a de gènes favorisant le caractère considéré, plus ce caractère est accentué. Dans de tels cas nous ne pouvons parler de dominance ou récessivité, mais plutôt de tendance. Cette hérédité régit plusieurs caractères connus et elle est en étroite relation avec les conditions du milieu. Parmi ces caractères, on retrouve la taille, l'intelligence, la mémoire,...

I.1) Nomenclature, vocabulaire et analyse des arbres généalogiques

Les lois originellement décrites par Mendel sont la conséquence de la répartition équitable, ou disjonction régulière, du matériel chromosomique dans les gamètes au cours de la méiose, et donc des copies d'un gène portées par les chromosomes homologues et de l'union de deux gamètes réduits qui lui fait suite, au cours de laquelle se reconstitue l'équipement diploïde du matériel génétique. Le dimorphisme fréquent des chromosomes sexuels, leur comportement particulier au cours de la méiose et la dissymétrie des gènes qu'ils portent ne font que confirmer la règle, mais conduisent à distinguer les modes héréditaires autosomiques et les modes liés au sexe. Ces observations empiriques ont constitué le fondement de la théorie chromosomique de l'hérédité.

La règle de base est très simple: tout individu qui porte la même information sur ses deux chromosomes produit un seul type de gamètes, tandis que tout individu portant sur les deux chromosomes homologues une information différente produit des gamètes de deux types, en quantité égale. L'union des gamètes des deux parents produit des proportions de zygotes conformément à des distributions statistiques simples. Dans ce cours consacré à l'homme, les lois fondamentales de la génétique des organismes diploïdes sont supposées connues. Dans ce qui suit, on se limite à rappeler la définition de quelques termes, le symbolisme en vigueur et les proportions classiques de l'hérédité monogénique.

I.1.1) Vocabulaire génétique

L'unité héréditaire d'information est appelée le **gène**. Il occupe sur le chromosome un emplacement particulier, qui est son **locus**. Locus désigne aussi l'emplacement d'un groupe de gènes apparentés adjacents sur les chromosomes, d'une séquence non codante, d'un marqueur ou l'un des divers sites que peut occuper une séquence mobile. En outre, le terme locus est souvent utilisé comme synonyme de gène.

L'unité d'information peut exister sous deux ou plusieurs états appelés états **alléomorphes**, **formes alléliques** ou simplement **allèles**. Les individus qui portent sur les deux chromosomes homologues la même information, le même allèle, sont qualifiés d'**homozygotes**. Les individus portant deux informations différentes, deux allèles différents, un sur chacun de leurs chromosomes, sont qualifiés d'**hétérozygotes**. L'**hémizygote** ne porte qu'une copie du gène. Le mot **génotype** désigne la constitution génétique du gamète, du zygote, du clone cellulaire ou de l'individu, pour un ou plusieurs gènes (ou locus).

La succession des gènes sur un chromosome ou sur un fragment de chromosome constitue une **synténie**, qui ne tient compte que de la nature de ces gènes, et l'on appelle **haplotype** la succession des formes alléliques de ces gènes sur un chromosome donné. En fait, les gènes n'ont nullement besoin d'être situés sur le même chromosome pour que l'on parle d'haplotype (par exemple, dans un gamète), mais cet usage n'est pas en vigueur dans l'espèce humaine, où l'haplotype désigne le plus souvent la succession des marqueurs ou des allèles sur un secteur chromosomique de petite taille. On utilise aussi, dans les études de liaison génétique, l'expression **phase allélique** pour désigner les associations entre les allèles de locus morbides et/ou des marqueurs sur les chromosomes.

Pour un locus donné, il existe en principe autant d'états homozygotes possibles que d'allèles. Ne sont cependant accessibles à l'étude formelle que ceux d'entre eux qui modifient les caractéristiques observables des individus (caractères morphologiques, biochimiques, physiologiques, etc.) ou **phénotypes**. L'hétérozygote peut présenter un phénotype semblable à celui de l'un des homozygotes. Le caractère, ou l'allèle de l'homozygote correspondant au phénotype visible chez l'hétérozygote est appelé **dominant** et l'autre **récessif**. Un état composite de l'individu hétérozygote, porteur simultanément des deux caractères présents chez les deux homozygotes, traduit une **codominance** (cas de certains marqueurs moléculaires), tandis qu'un état intermédiaire est une **dominance incomplète**.

Pour un gène donné, le génotype individuel est le même pour toutes les cellules, mais le phénotype ne s'observe que sur certains organes. L'observation peut être effectuée à divers niveaux (organisme, histologie, molécules) et les rapports de dominance peuvent varier en fonction de ces niveaux (dominance au niveau de l'expression d'une maladie, alors qu'il y a

codominance des séquences nucléotidiques, par exemple). En outre, le phénotype individuel peut varier en fonction du milieu et du génotype présent à d'autres locus.

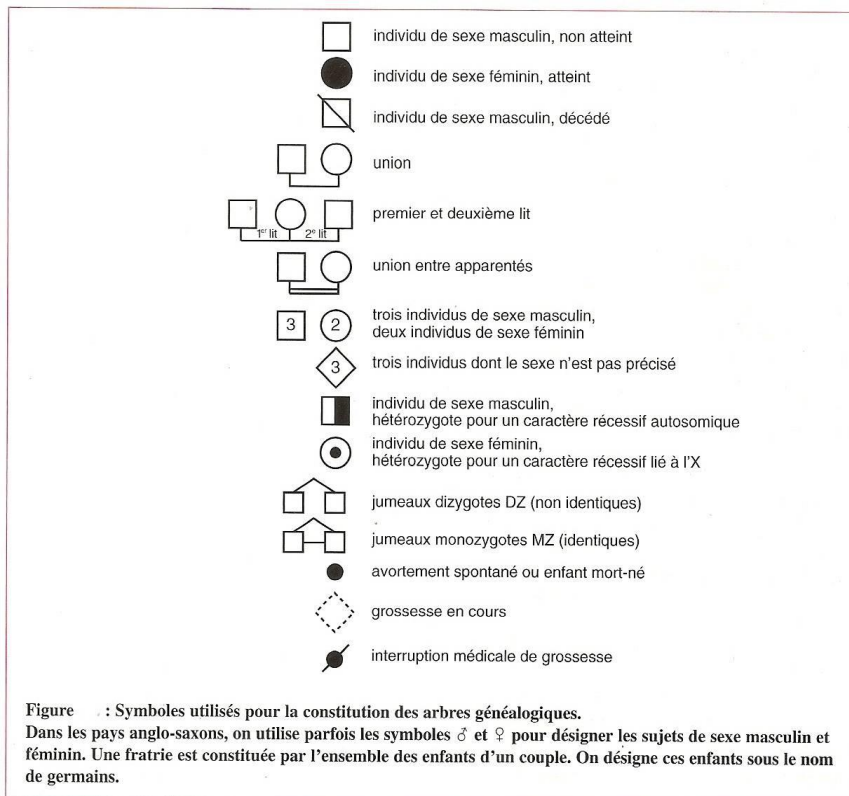
Une maladie ou un caractère **congénital** est un trait présent à la naissance ; la cause peut être génétique ou non. Par exemple, les malformations dues à la rubéole sont présentes à la naissance mais sont d'origine virale. Les maladies génétiques peuvent être létales avant la naissance, présentes à la naissance (elles sont alors génétiques et congénitales) ou se déclarer plus tard.

I.1.2) Modes héréditaires des maladies génétiques

Le nombre de maladies héréditaires connues va croissant. McKusick, dans son catalogue **Mendelian Inheritance in Man (MIM)**, recensait 1 487 maladies en 1966 et 6678 en 1994. Parmi ces 6 678, 4 458 étaient dominantes autosomiques, 1 730 récessives autosomiques, 412 liées au chromosome X, 19 au chromosome Y et 59 associées à une mutation mitochondriale. Or on estime que le génome humain contient environ 30 000 gènes.

Le mode de transmission d'une maladie se déduit de la répartition familiale des sujets sains et atteints. **L'arbre généalogique** résume cette information, qui doit être la plus précise possible. En particulier, l'examen médical doit porter sur le plus grand nombre possible de sujets. Certaines anomalies du phénotype, semblables à celles d'origine génétique, peuvent être dues à des facteurs environnementaux. Ces phénocopies sont importantes à reconnaître, puisqu'elles excluent l'intervention d'une cause génétique dans la réalisation de la maladie considérée.

Les arbres généalogiques sont tracés en utilisant les symboles utilisés par la plupart des généticiens. Ces différents symboles sont reproduits figure 1

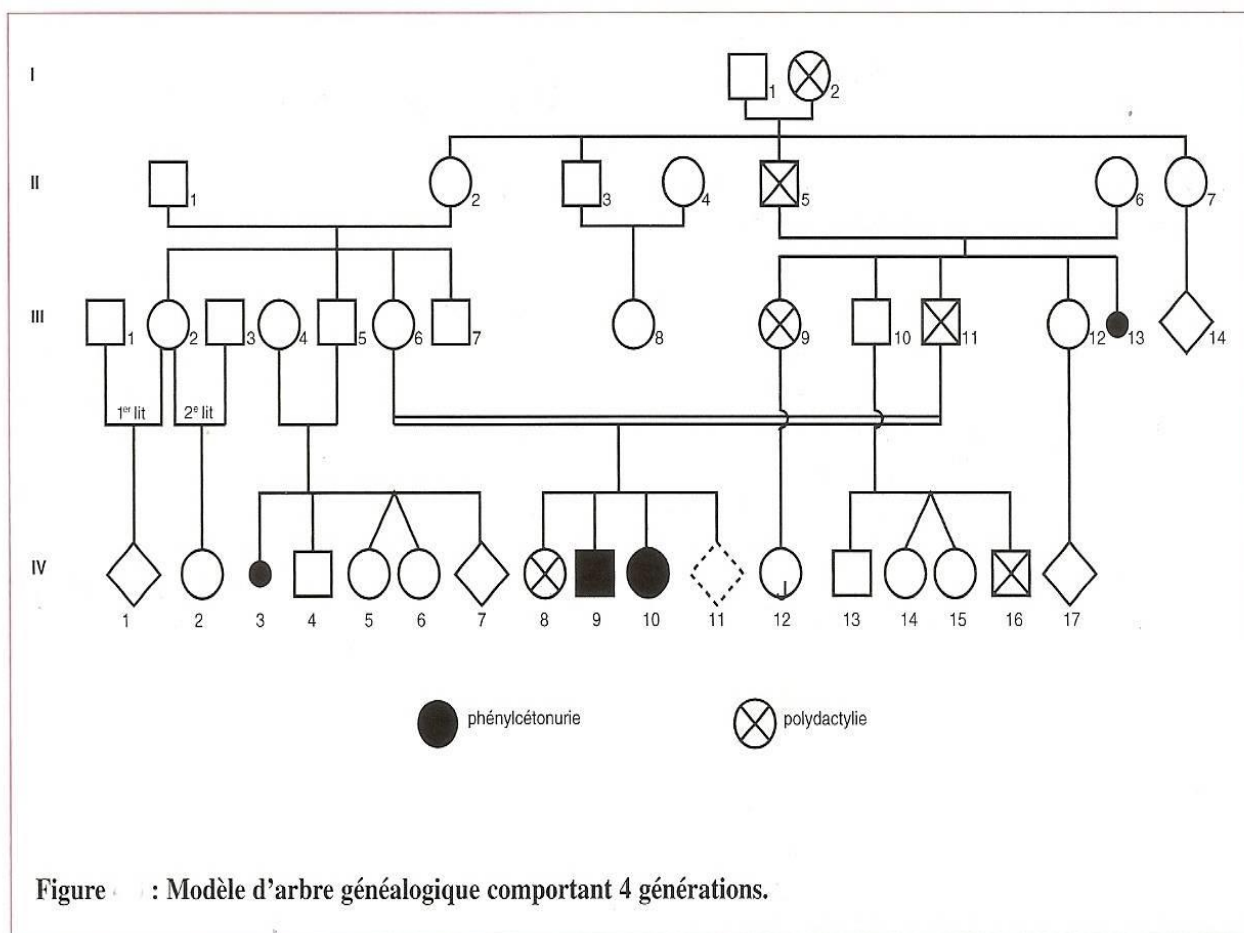


Des symboles noirs ■ ● indiquent les sujets porteurs de la maladie étudiée chez l'homme et la femme respectivement. Une flèche (→) désigne le propositus (ou proposant, ou cas index), c'est-à-dire le sujet permettant de recenser la famille; une famille peut avoir plusieurs propositus. Des symboles plus complexes sont utilisés en cas d'unilatéralité des lésions (◻) ou chez les sujets atteints d'une autre affection (◻ ◻). En cas de maladie liée au sexe, les femmes conductrices, c'est-à-dire hétérozygotes, sont représentées par ◯. Les sujets hétérozygotes, pour le gène d'une maladie récessive, sont parfois indiqués par les symboles (◯, ◻).

La figure 2 montre un exemple d'arbre généalogique. Les différentes générations sont numérotées en chiffres romains, le chiffre I désignant la plus ancienne représentée. Les différents individus d'une génération sont numérotés en chiffres arabes en partant de la gauche.

Parfois, les individus d'une généalogie sont numérotés uniquement avec des chiffres arabes utilisés d'une façon séquentielle: les individus d'un arbre généalogique comprenant n individus sont numérotés de I à n.

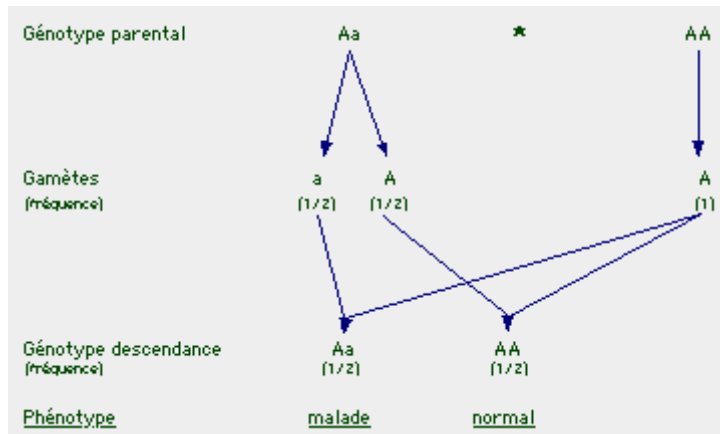
On étudie successivement les différents modes héréditaires.



I.2) Les modes classiques d'hérédité humaine

I.2.1) Hérité autosomique dominante (AD):

Cas le plus fréquent : Aa x AA (mariage d'un sujet hétérozygote atteint et d'un sujet normal).



--> Gamètes (fréquence)		a (1/2)	A (1/2)	
	A (1)	Aa (1/2)	AA (1/2)	<-- Génotype descendance (fréquence)
		(a)	(A)	<-- Phénotype descendance
		malade	normal	

- Les sujets atteints naissent toujours d'un parent porteur du même caractère (sauf mutation).
- Le caractère apparaît à chaque génération (ne saute pas de génération, sauf lorsque la pénétrance est réduite)
- Il y a autant de filles que de garçons atteints.
- Il y a en moyenne dans les fratries autant de sujets atteints que de sujets sains.
- Un sujet atteint a la moitié de ses descendants atteints (statistiquement).
- Un sujet sain a tous ses enfants indemnes. On n'observe pas particulièrement de consanguinité.
- Le caractère peut apparaître par mutation, puis se transmettre, ou, si les tares sont sévères, être éliminé rapidement.

Remarques :

- La plupart du temps, on ignore ce que serait un sujet homozygote pour le caractère dominant. Certaines observations suggèrent qu'il aurait une atteinte plus sévère, plus tôt, ou des troubles plus rapidement évolutifs.
- Notion de pénétrance et d'expressivité.
- Si une maladie n'est pas compatible avec la reproduction, sa fréquence est celle de son taux de mutation.

Exemples de maladies AD :

- Achondroplasie

- Aniridie,
- Maladie de Marfan
- Myotonie de Steinert
- Polydactylie
- Polypose colique multiple

I.2.2) Hérité autosomique récessive (AR):

Cas le plus fréquent : Aa x Aa (mariage de 2 sujets hétérozygotes bien portants).

Génotype parental: Aa * Aa

Génotype parental: Aa * Aa

--> Gamètes (fréquence)		A (1/2)	a (1/2)	
	A (1/2)	AA (1/4)	Aa (1/4)	← Génotype descendance (fréquence)
	a (1/2)	Aa (1/4)	aa (1/4)	
		Phénotype normal (A)	Phénotype malade (a)	

- Pour une maladie rare, les sujets atteints naissent en général de parents normaux.
- Il y a autant de filles que de garçons atteints.
- Il y a en moyenne dans les fratries un sujet atteint pour trois sujets sains.
- Un sujet atteint qui se marie à un sujet normal non apparenté donne habituellement naissance à des enfants normaux.
- La maladie peut se révéler par rencontre inopinée de gènes mutés lors d'un mariage, et du fait de la faible dimension des familles humaines, ne toucher qu'une personne dans une famille. Le cas isolé ne signifie donc pas nécessairement cas de novo.
- On observe fréquemment une consanguinité (les chances de rencontre de copies d'un même gène ancêtre muté augmentent), d' autant plus souvent que la maladie est plus rare.
- Quand une mutation se constitue, elle ne s'exprime pas chez les sujets qui la portent.

Remarques :

- Les mariages entre homozygotes existent, car souvent leur affection les rapproche (surdité, cécité...): centres spécialisés, comportements identiques.....
- Les maladies par déficits enzymatiques se transmettent en général sur ce mode.
- En fait, peu de gènes sont complètement récessifs, et souvent les hétérozygotes peuvent être dépistés : l'hétérozygote est différent des deux types d'homozygote: hérité intermédiaire ; la détection des hétérozygotes permet de leur donner un conseil génétique.
- Souvent les sujets homozygotes atteints décèdent, ou ne procréent pas.
- Parfois, le sujet homozygote atteint survit et se reproduit (albinisme par ex.). S'il épouse un sujet hétérozygote à phénotype normal, leur descendance paraîtra faussement de type dominant.
- Même lorsqu'une maladie est rare, les hétérozygotes sont fréquents (mucoviscidose: fréquence de la maladie : 4/10 000; --> fréquence des hétérozygotes : 4 /100).
- Notion de pénétrance et d'expressivité parfois.

Exemples de maladies AR:

- Les VI types de glycoséose.
- Les intolérances aux sucres : galactose, fructose, saccharose, lactose.
- Les VI types de mucopolysaccharidoses, sauf la II (Maladie de Hunter : RLX)
- La plupart des troubles du métabolisme des acides aminés : phénylcétonurie, tyrosinose, cystinose, leucinose, différents types d'albinisme (sauf l'albinisme oculaire : RLX) etc...
- De nombreuses anomalies du métabolisme des lipides.
- Maladie de Wilson.
- De nombreux troubles de l'hormonosynthèse, thyroïdienne et surrénalienne surtout.
- Drépanocytose, thalassémies.
- Déficits en facteurs I, II, V, VII, XII, XIII.
- Mucoviscidose. etc...

Particularités de l'hérédité AR

La consanguinité

Le terme d'union consanguine est incorrect : on doit parler d'union entre sujets apparentés, c'est à dire entre deux individus ayant au moins un ancêtre commun.

Dans cette situation, l'homme et la femme ont un risque plus grand d'avoir reçu de leur ancêtre commun, à un locus donné, un allèle identique et d'avoir des enfants homozygotes. Le coefficient de consanguinité définit la probabilité que les enfants de cette union reçoivent effectivement deux fois le même allèle.

I.2.3) Hérédité dominante liée au chromosome X

• Descendance d'une femme atteinte

	Xa	X
X	XXa	XX
Y	XaY (grave)	XY

La moitié des enfants sont atteints (les garçons de manière plus grave).
La moitié des enfants sont indemnes.

• Descendance d'un homme atteint

	Xa	Y
X	XXa	XY
X	XXa	XY

Les garçons sont toujours indemnes.
Toutes les filles sont atteintes.

Caractéristiques de l'hérédité dominante liée à l'X

L'allèle morbide se comporte comme un caractère dominant : les manifestations apparaissent aussi bien chez les hommes hémizygotés que chez les femmes hétérozygotes (moins grave chez les femmes).

- Les deux sexes peuvent être touchés par la maladie.
- Les femmes hétérozygotes sont moins sévèrement atteintes que les hommes (parfois létales chez les garçons).
- Les femmes atteintes peuvent transmettre leur maladie aux deux sexes : risque de 1/2.
- Toutes les filles d'un homme atteint sont malades. Il n'y a pas de transmission père-fils.
- La pénétrance est incomplète et l'expressivité variable. (voir hérédité autosomique dominante)

Exemples de pathologies

Le syndrome de l'X fragile

Rachitisme vitamino-résistant hypophosphatémique

Incontinentia pigmenti

Déficit en ornithine transcarbamylase (OCT)

1.2.4) Hérité récessive liée au chromosome X (RLX):

Cas le plus fréquent:

Femme hétérozygote, donc bien portante et conductrice, épousant un homme normal

--> Gamètes (fréquence)	F	X	x	
M		(1/2)	(1/2)	
X	XX	Xx		<-- Génotypes descendance (fréquences)
(1/2)	(1/4)	(1/4)		
Y	XY	xY		
(1/2)	(1/4)	(1/4)		

Phénotype normal (1/1 filles; 1/2 garçons) Phénotype malade (1/2 garçons)

- Les sujets atteints naissent généralement de parents normaux.
- Dans la parentèle du père, tous les sujets sont normaux.
- Dans la parentèle de la mère il existe souvent des frères ou des ascendants masculins atteints.
- Les sujets atteints sont pratiquement toujours des garçons.
- Dans la fratrie des atteints, un garçon sur deux est malade, et une fille sur deux est conductrice.

Cas particuliers

a) Mariage femme normale / homme atteint:

Génotype parental: $XX * xY$

--> Gamètes (fréquence)	F	X	
	M	(1/1)	
x (1/2)	Xx	Xx	← Phénotype normal (1/1 filles)
Y (1/2)	Xy	Xy	← Phénotype normal (1/1 garçons)

- Tous les garçons sont normaux et indemnes de la mutation.
- Toutes les filles sont normales mais hétérozygotes conductrices.

b) Mariage femme hétérozygote / homme atteint:

Génotype parental: $Xx * xY$

--> Gamètes (frequency)	F	X	x	
	M	(1/2)	(1/2)	
x (1/2)	Xx	Xx	xx	Phenotype normal 1/2 girls 1/2 boys
Y (1/2)	Xy	Xy	xy	

Situation rare si la mutation est sévère

- La moitié des garçons sont atteints.
- Les filles normales sont hétérozygotes.
- Il existe des filles malades (1/2).

Situation peu probable pour un gène rare, mais usuelle pour certains gènes fréquents (ex. daltonisme).

- L'atteinte exclusive des garçons n'est pas un caractère absolu de l'hérédité liée à l'X.
- Le critère de non transmission d'un père à son fils est plus fiable.
- (permet la différence avec les maladies dominantes autosomiques avec limitation au sexe).

Remarques : dépistage des hétérozygotes conductrices pour le conseil génétique.

Exemples de maladies RLX:

- Daltonisme

- Hémophilies A et B
- Angiokératose diffuse (Maladie de Fabry)
- Myopathie type Duchenne
- Incontinentia pigmenti
- Agammaglobulinémie type Bruton
- Déficit en G6PD. etc...

Particularités de l'hérédité RLX

• **Inactivation de l'X**

Dans chacune des cellules somatiques des femmes, les allèles d'un seul chromosome X sont fonctionnels; ceux portés par l'autre chromosome X sont pratiquement tous inactivés. L'inactivation d'un des chromosomes X se fait au hasard, à un stade précoce de l'embryogenèse. Chez une femme hétérozygote pour une maladie RLX, l'inactivation peut toucher soit le chromosome porteur de l'allèle muté soit celui porteur de l'allèle sain. La répartition aléatoire des X actifs dans tous les tissus explique la variabilité d'expression de l'allèle muté qui peut entraîner des anomalies biologiques (voire cliniques) chez les conductrices.

• **Détection des femmes conductrices (hétérozygotes)**

Dans une famille touchée par une maladie RLX, le dépistage des conductrices est essentiel en raison du risque de transmission et des possibilités éventuelles de diagnostic prénatal. Cette détection peut se faire:

- en recherchant des signes cliniques ou biologiques mineurs de l'affection en cause (dosage sanguin des enzymes musculaires dans la dystrophie musculaire de Duchenne ou dosage de l'activité du facteur VIII dans l'hémophilie A).

Ce type de détection n'est possible que pour certaines maladies et toutes les conductrices n'expriment pas d'anomalie.

- par la biologie moléculaire quand le gène ou sa localisation sont connus.

• **Mutations de novo**

Comme pour les maladies dominantes, une mutation sur le chromosome X peut survenir au cours de la méiose d'un individu totalement sain et non porteur de la mutation. Une mutation survenue au cours de la méiose masculine peut donner naissance à une fille conductrice; une mutation survenue au cours de la méiose féminine peut donner soit une fille conductrice soit un garçon atteint.

I.3) Facteurs affectant les modes de transmission

Facteurs susceptibles de modifier le phénotype

I.3.1) Hétérogénéité génétique

L'hétérogénéité génétique intéresse tous les modes de transmission mais est particulièrement illustrée par les maladies AR. On distingue :

• **L'hétérogénéité allélique ou intralocus** qui rend compte du fait qu'une maladie peut être due à des mutations différentes (alléliques) dans le même gène (une maladie / plusieurs allèles morbides). C'est ainsi que l'on connaît plus de 700 mutations différentes du gène CFTR impliqué dans la mucoviscidose. Un individu malade portant deux mutations différentes au même locus est appelé **hétérozygote composite**.

• **L'hétérogénéité interlocus** se traduit par le fait qu'un phénotype apparemment identique peut être causée par des mutations dans des gènes différents (une maladie / plusieurs gènes).

On a, par exemple, identifié actuellement plus de 40 loci impliqués dans les rétinites pigmentaires (AD, AR et RLX) qui sont des affections dégénératives de la rétine.

L'hétérogénéité des mutations conduit à des manifestations variables.

I.3.2) Pénétrance

Certains individus possédant le gène délétère (d'une maladie autosomique dominante, par exemple), ne présentent pas le phénotype attendu : on dit alors que la pénétrance est incomplète. Le nombre d'individus porteurs de la mutation ne correspond pas au nombre d'individus ayant un phénotype anormal. **Il s'agit d'une évaluation quantitative.** Dans la neurofibromatose de type-I la pénétrance est d'environ 80% mais il est cependant parfois difficile d'éliminer toute forme frustre de la maladie. Une meilleure connaissance du type de mutation dans ces familles nous permettra de mieux cerner cette notion de pénétrance.

□ ne pas confondre: un cas isolé par pénétrance incomplète et un cas sporadique par mutation.

La pénétrance incomplète

Lorsqu'un gène dominant n'entraîne aucune manifestation, il est dit non pénétrant

$$\text{Pénétration} = \frac{\text{Nombre d'individus phénotypiquement atteints}}{\text{Nombre d'individus porteurs du gène}}$$

Le coefficient de pénétrance est la probabilité de manifestation du gène
Dans une maladie à pénétrance variable, il peut y avoir des sauts de génération.
La pénétrance peut varier :

- **avec l'âge :**

Exemple : dans la maladie de Huntington

- à 30 ans 20 % des sujets ont des signes de la maladie
- à 40 ans 40 %
- à 50 ans 60 %
- à 60 ans 80 %

- **avec la qualité des moyens mis en œuvre**

Exemple : dans la polykystose rénale, la pénétrance n'est pas la même selon que l'on utilise des moyens de diagnostic clinique ou le dépistage échographique
Après dépistage échographique :

- 0 - 9 ans : 22 % (avant 10 ans, 22% des individus porteurs de la mutation ont des kystes rénaux)
- 20 - 30 ans : 86 %

I.3.3) Expressivité

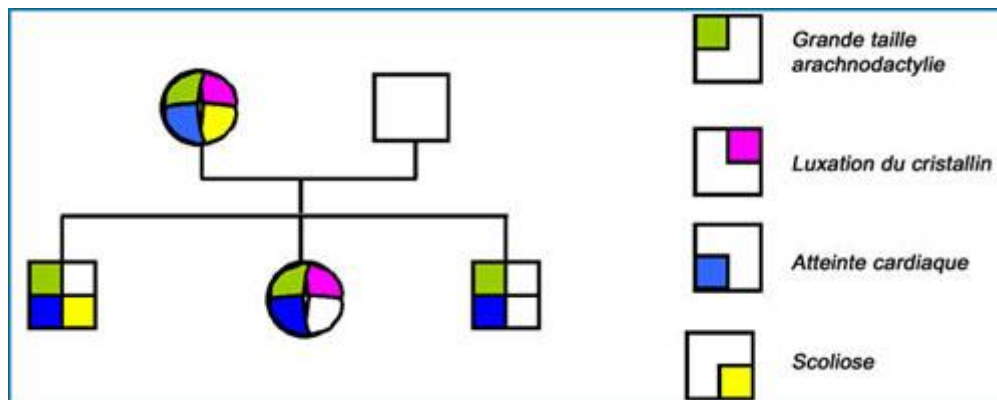
Par ailleurs, le phénotype peut être plus ou moins sévère selon les individus; il y a alors une expressivité variable du gène délétère. **Il s'agit d'une évaluation qualitative.**

L'expressivité peut concerner :

-Le nombre de tissus atteints

Exemple : maladie de Marfan : affection dominante liée à une mutation dans le gène de la Fibrilline. Dans le syndrome de Marfan, pour une mutation familiale identique, certains individus atteints auront une forme sévère touchant les systèmes cardio-vasculaire, oculaire et squelettique alors que pour d'autres individus seule la grande taille et l'arachnodactylie, sans luxation du cristallin ou anévrisme aortique, seront observées.

- L'atteinte est PLEIOTROPIQUE : concerne plusieurs organes et plusieurs tissus :
 - Squelette : grande taille, scoliose
 - Œil : luxation du cristallin
 - Cardiovasculaire : augmentation du diamètre de l'aorte, risque de dissection aortique et de mort subite.



-La sévérité de l'atteinte

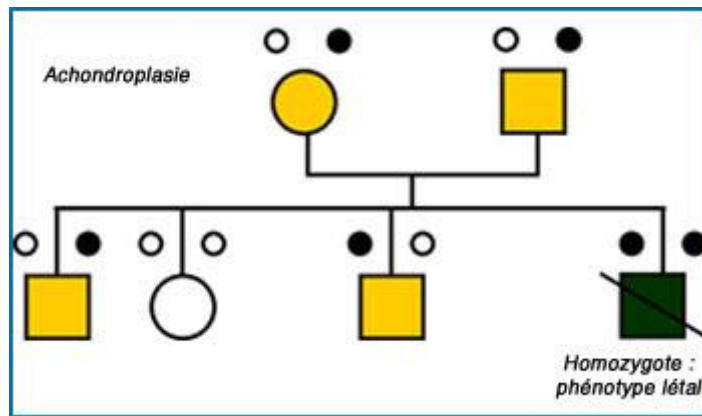
Pénétrance : Phénomène quantitatif

Expressivité : Phénomène qualitatif

Pénétrance et expressivité incomplètes se rencontrent surtout dans certaines maladies autosomiques dominantes.

I.3.4) Homozygotie pour un caractère dominant

- Situation exceptionnelle.
En général l'homozygote pour la mutation est plus sévèrement atteint que l'hétérozygote



- EXCEPTION : CHOREE DE HUNTINGTON : l'homozygote a le même phénotype que l'hétérozygote

I.3.5) Anticipation/ Âge du début de la maladie

Bien que présentes à la naissance plusieurs maladies ne se manifesteront que plus tard dans la vie. Un examen physique normal chez une personne de 20 ans, à risque de développer une maladie de Huntington, n'exclut pas la possibilité que cette personne soit effectivement atteinte de la maladie

- Si le défaut génétique est connu dans une famille, l'analyse moléculaire pourra confirmer ou exclure la présence d'une mutation avant l'âge du début de la maladie chez l'individu à risque.
- l'anticipation réfère à un phénomène d'apparition plus précoce d'une maladie d'une génération à l'autre accompagnée de manifestations plus sévères. Le phénomène est observé surtout, mais non exclusivement, dans les maladies autosomiques dominantes, en présence d'une répétition plus marquée de triplets d'une génération à l'autre, comme dans la dystrophie myotonique (CTG) et la maladie de Huntington (CAG). Dans l'ataxie de Friedreich, une maladie autosomique récessive, la littérature fait mention de plusieurs familles où la répétition plus importante de triplets (GAA) d'une génération à l'autre s'accompagne d'une apparition plus précoce de la maladie et d'une symptomatologie plus sévère. Cependant on retrouve aussi dans le syndrome du X Fragile (CGG), un syndrome lié au chromosome X, s'il y a répétition plus marquée de triplets, une sévérité accrue de la maladie sans qu'on puisse nécessairement parler ici d'un phénomène d'anticipation.

I.3.6) Pléiotropie

L'expression de certains gènes peut se limiter à un seul organe (ex : les rétinites pigmentaires AD qui comportent uniquement des anomalies ophtalmologiques); d'autres maladies touchent de nombreux organes (ex : la sclérose tubéreuse de Bourneville donne des signes cutanés, neurologiques, rénaux, cardiaques, etc...). On appelle ce phénomène l'effet pléiotropique du gène. Aussi dans le syndrome Moon-Biedl, une maladie autosomique récessive, des malformations sont observées au niveau des systèmes nerveux, endocrinien, squelettique et oculaire. Le gène mutant peut agir à plusieurs stades du développement.

1.3.7) Interaction des gènes co-facteurs

La fonction d'un gène est parfois régie par un ou d'autres gènes agissant à titre de régulateurs. Ainsi le gène en cause peut avoir une structure normale mais d'autres gènes ailleurs dans la chaîne métabolique ou l'absence de co-facteurs peuvent-être responsables de l'inhibition de l'activité de la protéine et l'apparition d'une maladie génétique.

-Pour certains individus le rachitisme est dû à une simple carence en vitamine D qui sera corrigée par l'ajout d'un supplément vitaminique dans l'alimentation. Pour d'autres il est dû à l'absence de la forme active de la vitamine D, une maladie autosomique récessive ou d'autres mutations touchant le métabolisme de la vitamine D.

-On retrouve des mutations de gènes suppresseurs du cancer, régulateurs de protéines (enzymes) ou de réparation de l'ADN. À titre d'exemples ces mutations seront à l'origine de maladies métaboliques telles les mucopolysaccharidoses, les cancers de l'ovaire et du colon, et les défauts de réparation de l'ADN comme dans l'ataxie télangiectasique.

1.3.8) Gènes de susceptibilité au cancer et malformations

Un certain nombre de gènes susceptibles d'être à l'origine d'un cancer peuvent simultanément être à l'origine d'un syndrome malformatif.

-Le gène WT1 situé sur le chromosome 11 qui l'habite subirait une délétion dans la région 11p13 entraînant une tumeur de Wilms et une néphropathie. Le syndrome WAGR (W : Wilms ; A : aniridie ; G : malformation génito-urinaire, R : retard mental) serait une conséquence de cette délétion impliquant à la fois des gènes contigus de la région 11p13 - 11p14.

-Un autre exemple est celui du syndrome de Beckwith-Wiedemann également situé sur le chromosome 11, dans la région 11p15.5 qui impliquerait plus d'un gène contigu de cette région. Le syndrome se manifeste par de l'obésité, macroglossie, néphroblastome (hépatoblastome, neuroblastome), gigantisme et omphalocèle. Le facteur de croissance IGF-2 (' Insulin-like growth factor 2') un gène imprimé (expression paternelle) serait impliqué dans la pathogénèse de la macrosomie; une mutation d'autres gènes, tel que le gène CDKN1C (p57K1P2) (expression maternelle), peut être responsable pour d'autres aspects du phénotype.

□ D'autres observations et études moléculaires sont essentielles pour préciser les mécanismes étiologiques de ces syndromes malformatifs avec susceptibilité au cancer.

1.3.9) Hérité multifactorielle

- Multiallélique : il existe pour 1 même locus toute une série d'allèles possibles; chaque sujet n'en possède que 2 et la transmission se fait sur le mode monogénique.
- Multifactoriel :
 - Il existe pour un caractère donné, toute une série de gènes (et donc de loci) qui concourent à son établissement (synonymes: système polygénique, hérité quantitative, facteurs multiples).
 - Leur étude génétique est complexe et mathématique.

- Rôle adjuvant de facteurs environnementaux. - exemples : taille d'un sujet, cardiopathies congénitales, épilepsie.

Exemples de maladies héréditaires multifactorielles:

- Fente palatine
- Bec de lièvre
- Maladies cardio-vasculaires
- Epilepsie
- Schizophrénie
- Diabète
- Goutte
- Luxation de la hanche
- Strabisme
- Psoriasis, etc... etc...

I.4) Modes non classiques d'hérédité humaine

I.4.1) Hérédité mitochondriale

Les mitochondries proviennent d'anciennes bactéries anaérobies; elles ont leur propre ADN. Il existe donc un ADN extra nucléaire dans nos cellules.

ADN mitochondrial :

- ADN circulaire de 16 kb, dont la séquence est entièrement connue.
- 37 gènes codant pour 13 protéines, des ARN ribosomiques, et des ARN de transfert.
- Avec un code différent du code universel : Mito. Univ. UGA Trp STOP AUA Met Ile AGA/AGG STOP Arg .(voir tableau ci-dessous)
- Les mitochondries sont présentes dans l'ovocyte (en très grand nombre) :
- Hérédité *non mendélienne*: hérédité purement maternelle.
- Il existe des maladies héréditaires dues à des gènes mitochondriaux défectueux.
- Les cytopathies mitochondriales sont souvent des pathologies à symptomatologie pléiotropique (multiple), car le déficit touche de nombreux organes; ex: syndrome de Pearson: insuffisance pancréatique exocrine, insuffisance médullaire/myélodysplasie, déficit musculaire, troubles hépatique, rénal, gastrointestinal ...

Variation du code génétique

Les mitochondries utilisent un code génétique différent du code génétique universel, utilisé par la très grande majorité des organismes vivants. En fait il existe 17 codes génétiques différents, dont 11 pour les mitochondries de différents organismes. Il faut noter que les associations entre espèces et code génétique mitochondrial sont en constante évolution au gré des séquençages de nouveaux génomes mitochondriaux. Par exemple le code n°5 appelé "code mitochondrial des invertébrés" est confirmé pour des espèces comme Caenorhabditis elegans ou la drosophile (avec l'exception de l'absence de codon AGG), mais par exemple, ce n'est pas le cas pour les oursins qui ont leur propre code (n°9).

Exceptions au code génétique universel chez différentes mitochondries

Organisme	Codon	Standard	Variation
Vertébré	AGA, AGG	Arginine	Stop
	AUA	Isoleucine	Methionine
	UGA	Stop	Tryptophane
	AGA, AGG	Arginine	Serine
Invertébrés	AUA	Isoleucine	Methionine
	UGA	Stop	Tryptophan
	AUA	Isoleucine	Methionine
Levure	UGA	Stop	Tryptophane
	CUA	Leucine	Threonine

Une maladie due à un gène mitochondrial défectueux est transmise :

1. Uniquement par les femmes,
 2. A tous ses descendants. Souvent l'anomalie génétique n'est pas présente dans toutes - mais dans une partie seulement- des mitochondries transmises à la génération suivante; alors, selon le taux de mitochondries mutées
 3. Expressivité variable
- Note: Le terme "cytopathie mitochondriale" peut être ambigu: les cytopathies mitochondriales incluent non seulement les pathologies dues aux mutations des gènes mitochondriaux, mais aussi celles dues aux mutations des gènes nucléaires codant pour les protéines intervenant dans le métabolisme mitochondrial (enzymes de la chaîne respiratoire).

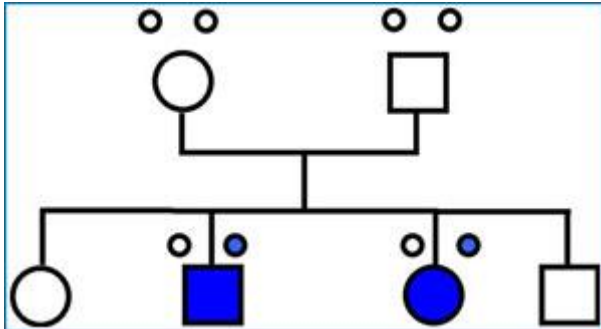
Exemples de maladies héréditaires mitochondriales:

- Atrophie optique de Leber
- Myopathies mitochondriales
- Syndrome de Pearson

I.4.2) Mosaïque germinale

Le mosaïcisme germinale est défini par la présence d'une double population de cellules germinales, certaines étant porteuses d'une mutation, d'autres étant sauvages. Par définition, le parent porteur d'une mutation germinale en mosaïque peut la transmettre à sa descendance. Si cette mutation est absente des cellules somatiques, la maladie ne s'exprimera pas chez le parent porteur mais pourra être transmise à sa descendance. Ce concept est d'une grande importance en conseil génétique puisqu'il signifie que des parents indemnes peuvent avoir plus d'un enfant porteur d'une apparente néo-mutation. *L'ostéogenèse imparfaite* est une affection autosomique dominante habituellement associée à des mutations hétérozygotes dans

les gènes COL1A1 ou COL1A2 codant pour les chaînes $\alpha 1$ et $\alpha 2$ du collagène de type 1. La transmission du trait peut alors ressembler, dans certaines familles, à une hérédité autosomique récessive avec plusieurs enfants issus de parents sains. Ce mosaïcisme germlinal a été décrit dans diverses affections dont la *NF1* et la *dystrophie musculaire de Duchenne*.



I.4.3) Empreinte parentale ou Empreinte génomique

oUn gène est soumis à empreinte lorsque l'expression de ce gène dépend de son origine parentale (maternelle ou paternelle).

oUn gène peut être soumis à empreinte seulement dans un tissu particulier (par exemple uniquement dans le placenta) ou à un moment particulier (par exemple au cours du développement embryonnaire).

oLes gènes soumis à empreinte sont le plus souvent regroupés dans des domaines chromatinien contrôlés par un centre d'inactivation.

On connaît actuellement chez l'homme plus de 30 gènes soumis à empreinte parentale, et on estime qu'il en existe probablement dix fois plus.

Au cours du développement les génomes d'origine maternelle et paternelle ne sont pas équivalents mais complémentaires suite à un phénomène épigénétique survenu en gamétogénèse

La fonction d'un gène peut varier selon qu'il est d'origine maternelle ou paternelle.

-Une délétion sur le chromosome 15 (15q11-13) originant du complément chromosomique paternel va donner un syndrome de Prader Willi différent du syndrome d'Angelman observé si la délétion origine de la mère.

-Dans certaines maladies le sexe du parent atteint peut influencer le degré de sévérité chez la personne à qui le gène mutant est transmis. Dans la dystrophie myotonique la maladie sera plus sévère, souvent congénitale si c'est la mère atteinte qui transmet la maladie alors que dans la maladie de Huntington la maladie sera plus sévère et de manifestation précoce si c'est le père qui l'a transmise. Dans ces deux exemples le rôle d'autres facteurs soit d'empreinte parentale ou de mutation mitochondriale n'est pas exclu.

- La fécondation d'un ovule anucléé par un spermatozoïde, dont le complément haploïde a subi une duplication ou par une dispermie, serait responsable de la môle hydatiforme.

I.4.4) Disomies Uniparentale (DUP)

Il existe, chez un individu diploïde, une disomie uniparentale (DUP) pour un chromosome ou un segment de chromosome lorsque les deux exemplaires de ce matériel ont été hérités d'un seul et même parent.

-On parle d'isodisomie ou d'hétérodisomie uniparentale selon que les deux exemplaires du matériel considéré chez l'individu sont la copie d'un même exemplaire ou des deux exemplaires différents du matériel parental, respectivement.

-La mise en évidence des DUP repose sur des techniques de biologie moléculaire : en effet, l'utilisation de marqueurs polymorphes microsatellites d'un locus donné, comparativement chez le sujet et ses deux parents, permet de mettre en évidence la double contribution de l'un des parents et la non-contribution de l'autre parent au génotype du sujet, pour ce locus.

I.4.4.1) Mécanismes conduisant aux disomies uniparentales

Parmi les mécanismes invoqués pour expliquer l'apparition d'une DUP, trois semblent plus probables :

- (1) la fécondation d'un gamète disomique pour une paire chromosomique donnée par un gamète nullosomique pour le même chromosome (complémentation gamétique)
- (2) la duplication d'un chromosome dans un zygote monosomique
- (3) la "correction (ou réduction) de trisomie", c'est-à-dire la formation d'un zygote trisomique suivie de la perte d'un des 3 chromosomes intéressés par la trisomie. Ce mécanisme de correction de trisomie pourrait être le plus fréquent.

Si la correction d'une trisomie se fait au hasard, c'est une fois sur trois que les deux chromosomes homologues conservés proviennent d'un même parent et qu'il en résulte une DUP . Ce mécanisme est observé en particulier dans les trisomies confinées au placenta, en mosaïque ou non, qui peuvent conduire à une DUP par réduction de trisomie.

Les conséquences phénotypiques des DUP sont variées et en rapport avec des mécanismes divers.

A-Les mécanismes

1. Une isodisomie uniparentale peut faire apparaître une maladie récessive autosomique alors que seul l'un des parents est hétérozygote pour l'allèle mutant. Cette situation a été démontrée dans de rares cas de mucoviscidose, où, chaque fois, les enfants atteints ont hérité des deux copies maternelles du chromosome 7.

2. Lorsqu'elle porte sur un territoire chromosomique soumis à empreinte parentale, une disomie uniparentale peut engendrer une pathologie lorsqu'elle exclut le chromosome parental normalement actif.

o Ainsi, 30% des cas de syndrome de Prader-Willi sont dus à une DUP maternelle de la région q11-q12 du chromosome 15 ; en effet, c'est l'exemplaire paternel qui est actif.

o La DUP d'une région voisine du chromosome 15 d'origine paternelle est, quant à elle, responsable d'environ 5% des cas de syndrome d'Angelman : c'est l'exemplaire maternel qui est normalement actif.

o Dans le syndrome de Beckwith-Wiedemann, une DUP des chromosomes 11 d'origine paternelle a été mise en évidence dans environ 10% des cas.

B-Conséquences phénotypiques

1-Retard de croissance intra-utérin

o Les enfants atteints de mucoviscidose par DUP maternelle cités plus haut présentaient en outre un retard de croissance intra-utérin (RCIU) ce qui est inhabituel dans cette maladie. Le gène de la mucoviscidose (CFTR) est situé sur le chromosome 7. Or d'autres cas de DUP du chromosome 7 d'origine maternelle ont été rapportés chez des enfants sans mucoviscidose mais ayant un RCIU qui se prolonge par une petite taille post natale.

o Des DUP du chromosome 14 d'origine maternelle ont été décrites chez des patients ayant un RCIU, un retard de croissance statural post natal et une puberté précoce.

o Des DUP obtenues chez la souris en utilisant des lignées pures porteuses de translocations réciproques équilibrées ont montré, dans un grand nombre de cas, qu'un RCIU important semblait être la seule conséquence, témoignant ainsi de l'importance d'une contribution biparentale pour un développement foetal harmonieux. Il est donc possible qu'une certaine fraction des RCIU inexplicés de l'homme résulte d'une DUP.

I.4.4.2) Phénotype non pathologique

o Chez l'homme comme chez la souris, certaines DUP ne s'accompagnent d'aucun retentissement phénotypique, ce qui permet d'exclure la présence de gènes soumis à empreinte parentale dans les régions étudiées (c'est le cas par exemple pour les DUP maternelles et paternelles des chromosomes 13 et 21, les DUP maternelles des chromosomes 4 et 22 et les DUP paternelles du chromosome 6).

L'incidence des DUP n'est pas connue mais le nombre d'observations déjà publiées justifie leur recherche systématique dans diverses situations cliniques, et en particulier :

o l'association, à une maladie autosomique récessive rare d'un RCIU ou d'autres anomalies malformatives,

o l'association d'une translocation équilibrée, héritée ou de novo, à un phénotype anormal,

o un RCIU sévère et isolé inexplicé,

o une pathologie connue de l'empreinte parentale.

La découverte d'une DUP peut contribuer à la localisation et à l'identification de gènes soumis à empreinte génomique parentale.

Plusieurs maladies sont en rapport avec des gènes soumis à empreinte :

- Syndrome de Prader-Willi
- Syndrome d'Angelman
- Syndrome de Silver-Russel
- Diabète néonatal
- Syndrome de Beckwith-Wiedemann
-

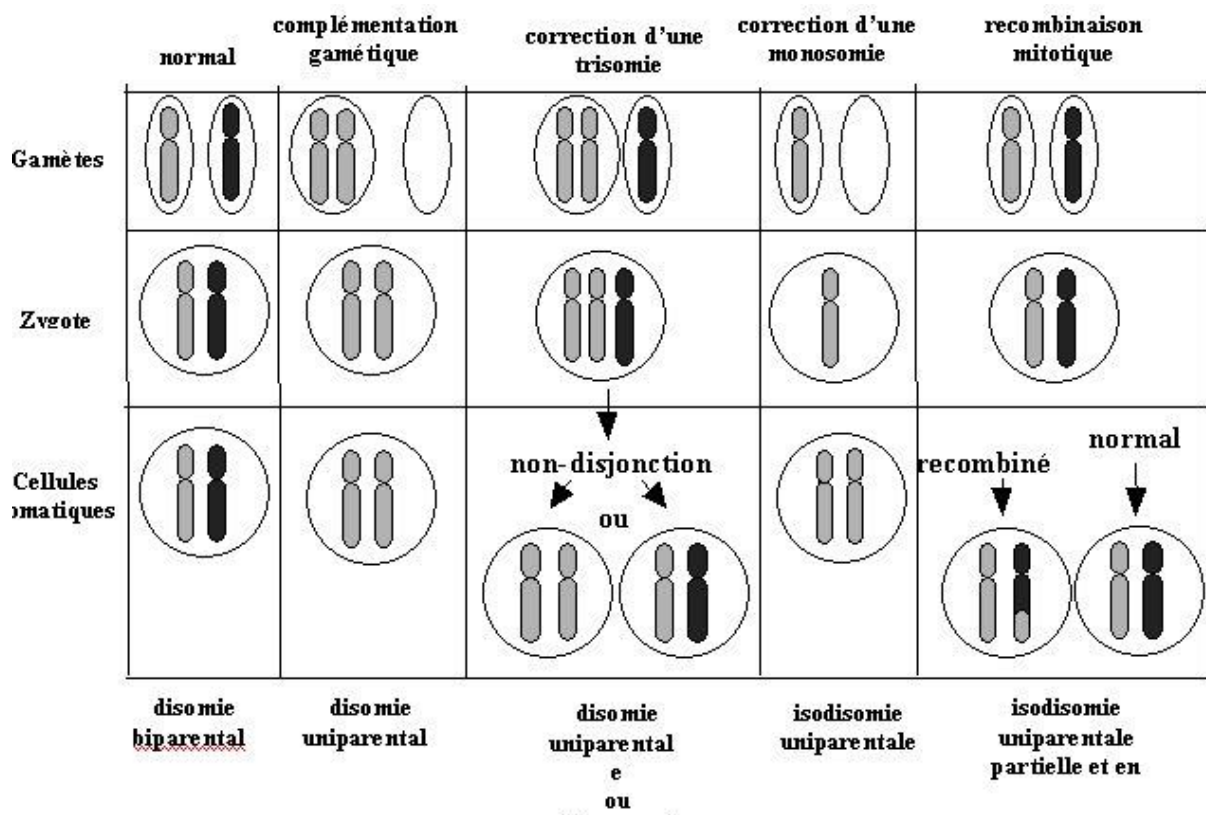


Figure 2. Mécanismes de formation des disomies uniparentales

II) ANALYSE GENETIQUE

Une **analyse génétique** est une technique d'analyse du génome des cellules d'un organisme. Les analyses génétiques se pratiquent sur tout type d'organisme. Chez les humains elles sont utilisées dans un cadre médical ou juridique (enquête criminelle)

Différents types d'analyse

Ce peut être :

- une empreinte génétique pour établir une identité ;
- une analyse de l'ADN mitochondrial pour mettre en évidence une filiation ;
- un test de paternité ;
- un diagnostic génétique pour dépister une éventuelle maladie génétique ou pour évaluer un risque ;
- Une analyse de génome pour comparer l'ADN en phylogénie moléculaire.
- Le sexage ADN consiste à déterminer le sexe d'un individu par analyse d'un gène déterminant le sexe, quand le sexe n'est pas déterminable (organisme jeune...).

II.1) Techniques d'analyse génétique

Les tests génétiques

Les tests génétiques englobent deux grandes catégories d'application : d'une part, le **test prédictif**, le **dépistage des porteurs de gènes délétères** et le **test diagnostique**, et d'autre part, les **empreintes génétiques**. Le test prédictif, le dépistage des porteurs et le test diagnostique sont décrits ci-après. Les empreintes génétiques sont décrites en fin de chapitre.

On sait que les maladies héréditaires sont associées à des anomalies dans certains gènes ou chromosomes particuliers. Ainsi, on sait que plusieurs maladies sont liées à des mutations génétiques particulières, comme la maladie Tay-Sachs et la fibrose kystique (ou mucoviscidose)

Le test prédictif, le dépistage des porteurs et le test diagnostique permettent d'évaluer l'ampleur de ces anomalies dans chaque génome.

Avant d'examiner comment les techniques de dépistage génétique sont employées pour déceler ces maladies et d'autres, il nous faut comprendre comment les gènes défectueux peuvent déclencher la maladie.

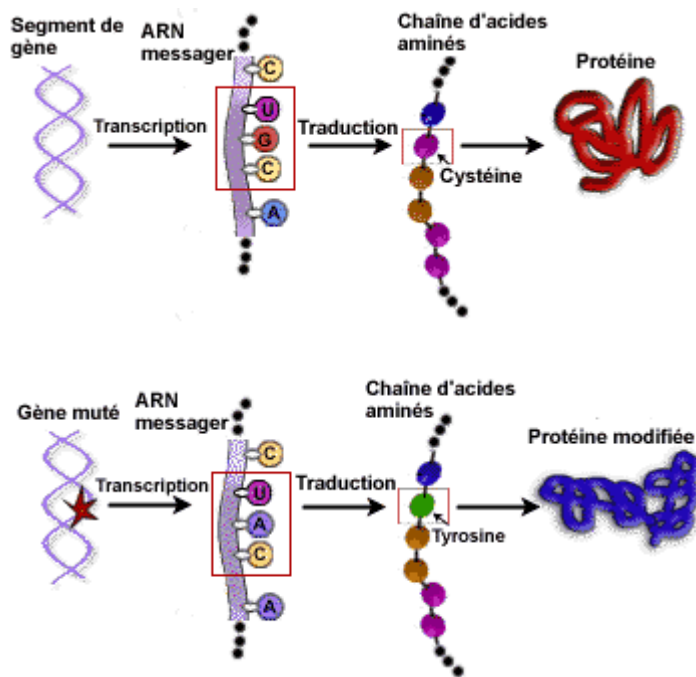
II.1.1) Gènes défectueux et maladie génétique

De nombreux gènes sont transcrits en ARN messager, qui, en fin de compte, synthétise les protéines. Ce sont les protéines qui sont responsables d'importants processus cellulaires. Si un gène particulier est défectueux, son produit protéique ne sera peut-être pas fabriqué ou encore il fonctionnera mal ou de manière trop agressive. **Les symptômes d'une maladie génétique sont le résultat de l'interruption de processus cellulaires vitaux provoquée par l'absence ou le mauvais fonctionnement de protéines.**

Par exemple, la fibrose kystique est généralement provoquée par l'absence d'un segment de gène qui donne lieu à une malformation de la protéine de transport membranaire de la cellule. Cette malformation entraîne en fin de compte l'accumulation d'un épais mucus dans les poumons et les voies aériennes du corps. Les cancers sont provoqués par des cellules qui se

divisent et prolifèrent de manière incontrôlable. Les gènes défectueux, que l'on appelle oncogènes, peuvent donner lieu à une prolifération cellulaire.

L'absence ou le mauvais fonctionnement d'une protéine peut être le résultat d'une mutation génétique. Une *mutation* génétique est simplement une altération des nucléotides qui constituent un gène. Elle peut prendre la forme du remplacement d'un nucléotide par un autre, ce qui entraîne la substitution d'un acide aminé par un autre sur la chaîne protéique qui en résulte. Par exemple, la séquence d'ARN UGC code pour un acide aminé appelé *cystéine* dans la chaîne protéique résultante. Si le nucléotide guanine (G) était remplacé par un nucléotide adénine (A), la nouvelle séquence UAC coderait pour la *tyrosine*, un acide aminé différent. La protéine produite pourrait prendre une forme différente, car la cystéine peut former des liaisons particulières avec d'autres segments de la chaîne protéique (appelées liaisons disulfures), ce qui n'est pas le cas de la tyrosine.



La perte ou le gain d'un nucléotide dans une séquence génétique constitue un autre type de mutation, qui peut entraîner la production d'une protéine tout à fait différente, car la « phase de lecture » est modifiée. Envisageons l'exemple suivant : supposons que la version normale d'un brin d'ARN messager renferme ce qui suit :

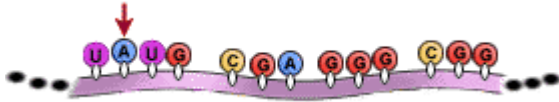


La chaîne d'acides aminés codée pour cette séquence est



Ceci se produit, car UUG code pour la leucine, CGA et CGG codent pour l'arginine, et GGG code pour la glycine.

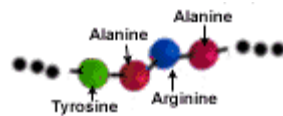
Imaginons maintenant qu'on ajoute une adénine (A) supplémentaire après la première uracile (U) :



Comme les nucléotides sont toujours « lus » en triplet par un ribosome lors de la fabrication d'une protéine, ils seront lus comme suit :



Maintenant, la séquence d'acides aminés sera :



car UAU code pour la tyrosine, GCG code pour l'alanine et AGG code pour l'arginine. En conséquence, l'ajout d'un seul nucléotide donne lieu à une séquence complètement différente d'acides aminés (et donc de protéine), car la phase de lecture est décalée d'un seul nucléotide!

D'autres types de mutations entraînent la suppression ou la multiplication de longs segments d'ADN. En d'autres termes, ou les protéines associées ne sont pas du tout fabriquées, ou elles sont beaucoup plus courtes ou plus longues, ce qui réduit leur capacité de faire leur travail correctement.

II.1.2) La mutation génétique

Les mutations génétiques peuvent soit être *héréditaires* soit être *acquises* pendant la vie d'une personne. Une mutation *héréditaire* sera présente dans toutes les cellules d'une personne et sera transmise à sa descendance, car les cellules reproductrices de la personne (**sperme ou ovule**) renferment la mutation.

Les *mutations acquises* peuvent se produire dans l'ADN de cellules individuelles sous l'action de nombreux facteurs possibles. Par exemple, des mutations dans l'ADN des cellules de la peau peuvent être provoquées par **l'exposition aux rayons ultraviolets du soleil**. Les mutations génétiques dans d'autres cellules peuvent être provoquées par des erreurs qui se produisent juste avant la division cellulaire, pendant laquelle une cellule réplique son ADN avant de se diviser en deux.

En général, les mutations qui se produisent sont rapidement réparées, avant que la mutation ne soit transmise aux cellules des descendants, par une **batterie d'enzymes qui scrutent constamment l'ADN pour déceler les erreurs**. Toutefois, parfois, ces enzymes de réparation échouent, ce qui entraîne des mutations non corrigées susceptibles de provoquer des troubles.

Il convient de noter que **90 à 95 p. 100 de tous les cancers sont attribuables à des mutations acquises² et non héréditaires**. En conséquence, l'absence de mutations cancérogènes avant la naissance ou à un jeune âge ne garantit pas qu'une personne n'ait pas un cancer plus tard dans sa vie par suite d'une ou de plusieurs mutations acquises.

II.1.3) Tests génétiques en recherchant des mutations dans un échantillon d'ADN

Habituellement, on effectue les tests prédictifs et diagnostiques et le dépistage des porteurs pour déceler des mutations génétiques en examinant l'ADN d'une personne. Cependant, il ne

s'agit pas de la seule méthode employée pour déterminer si l'ADN d'une personne a subi une mutation particulière.

Il existe un autre moyen de déceler la présence de mutations. Lorsqu'on constate l'absence ou le mauvais fonctionnement d'une protéine -- et quand on peut les attribuer à une mutation (ou plusieurs mutations) d'un *simple gène* - on parle de **test génétique fonctionnel**. Le test fonctionnel a l'avantage de pouvoir démontrer non seulement la présence d'un gène muté, mais aussi qu'il fabrique une protéine anormale ou encore qu'il ne fabrique aucune protéine.

Si l'on peut déceler des mutations dans l'ADN d'une personne en examinant ses protéines, c'est parce que des gènes particuliers codent pour un ARN messager particulier qui, à son tour, code pour des protéines distinctes. En conséquence, une **analyse de l'ARN ou des protéines d'une personne (ou leur absence, si un gène défectueux empêche leur production!)** peut révéler la présence d'une mutation génétique particulière dans l'ADN d'une personne.

II.1.4) Tests génétiques à l'aide de l'ADN :

a) Test direct de l'ADN

Le test direct vise à déceler une mutation génétique particulière (ou plusieurs mutations) que l'on sait à l'origine de maladie. Pour ce faire, on peut examiner l'ADN d'une personne, l'ARN, les protéines ou d'autres produits d'expression génique. **Le test direct de l'ADN est réalisé comme suit :**

- o Tout d'abord, on prélève un échantillon des cellules de l'individu à tester. En général, on utilise des cellules sanguines, car ce sont les plus faciles à prélever.

- o Ensuite, on extrait l'ADN des cellules. Presque toutes les cellules du corps d'une personne contiennent une série identique et complète d'ADN. En conséquence, l'ADN obtenu d'une cellule, quelle qu'elle soit, peut être utilisée pour déceler une mutation.

- o L'ADN est rompu à l'aide d'enzymes appelés **endonucléases de restriction**. Ces enzymes coupent l'ADN en des sites précis.

- o Les morceaux sont ensuite triés selon leur taille à l'aide d'une technique appelée **électrophorèse en gel**, comme suit :

l'ADN est placé dans un gel d'agarose (produit semblable à de la gelée fabriqué à partir d'algues marines) et on applique un potentiel électrique. Comme l'ADN est chargé négativement, il se déplacera à travers le gel vers le pôle positif. Mais les morceaux plus petits rencontreront moins de résistance que les plus gros, ce qui signifie qu'ils se déplaceront plus rapidement dans le gel.

- o Après quelques heures, les fragments d'ADN auront été organisés en fonction de leur taille, les fragments les plus petits ayant été le plus loin, alors que les plus longs auront peut-être à peine bougé par rapport à leur position de départ.

- o Ensuite, **les fragments d'ADN sont transférés sur une feuille de nylon**. Le nylon, placé au-dessus du gel, absorbe l'ADN, de sorte que tous les brins d'ADN sont transférés tout en gardant leur position relative en fonction de leur taille. Pendant ce processus d'absorption, l'ADN bicaténaire est séparé en brins uniques.

- o La feuille de nylon à laquelle l'ADN s'est fixé est placée dans une solution avec des sondes spéciales d'ADN. **Les sondes d'ADN ont été conçues en laboratoire pour se lier à un fragment de gène porteur d'une maladie connue**. Une sonde repère son image symétrique sous la forme du gène infecté et s'y lie.

- o Les sondes d'ADN sont radioactives, de sorte que toute sonde qui se lie à la feuille de nylon (et donc à un gène porteur de maladie) peut être décelée. **On superpose une pellicule photographique sur la feuille de nylon aux fins de détection**. Les gènes porteurs de la maladie qui se sont liés aux sondes d'ADN apparaîtront sur le film comme une série de bandes

foncées. Par conséquent, les bandes foncées sur le film à l'endroit prévu (souvenez-vous que l'emplacement de la bande indique la taille du fragment d'ADN) révéleront la présence d'un gène porteur de la maladie.

Le test direct est actuellement possible pour des maladies comme la fibrose kystique, la chorée de Huntington (affection qui survient chez les personnes d'âge moyen et qui provoque la démence, puis la mort²), **la dystrophie myotonique** (l'affection musculaire héréditaire la plus courante chez les adultes qui entraîne un affaiblissement et une atrophie musculaire⁴) et **l'achondroplasie** (affection provoquant des difformités osseuses pendant l'enfance et entraînant le nanisme).

Il convient de noter que le test direct ne prédit pas infailliblement avec précision le début d'un trouble génétique. **Les personnes touchées par une certaine mutation génétique ne connaîtront pas toutes la maladie et certaines personnes atteintes ne présenteront pas la mutation recherchée.** Le déclenchement d'un trouble génétique peut aussi dépendre de l'exposition à certaines conditions dans l'environnement d'une personne, ou la maladie peut être provoquée par une autre mutation non recherchée. Par exemple, bien que l'on ait constaté que de nombreuses mutations soient à l'origine de la fibrose kystique, il serait très onéreux et laborieux d'effectuer les tests pour toutes les déceler. On recherche plutôt les 13 mutations les plus courantes, qui représentent environ 88 p. 100 de tous les cas (ce pourcentage varie en fonction de l'origine ethnique). De toute évidence, une personne présentant l'une des mutations plus rares non recherchées pourrait être atteinte de la maladie même si son test génétique était négatif.

Comme ces tests ne sont pas prédictifs à 100 p. 100, l'information obtenue doit être interprétée en tenant compte des antécédents familiaux et, dans certains cas, du diagnostic établi par le spécialiste au terme de l'examen physique.

(b) Analyse de liaison

Il est également possible de déceler les maladies génétiques sans rechercher les mutations génétiques particulières qui les provoquent. **Il est possible de déceler les maladies génétiques en recherchant les marqueurs génétiques chez les membres de familles ayant déjà présenté** une affection donnée. On appelle ce type de test **analyse de liaison**. Les marqueurs génétiques sont des segments d'ADN dont héritent systématiquement les personnes porteuses de la maladie mais qu'on ne retrouve pas chez les membres de la famille qui en sont exempts. Ces segments génétiques sont grands et peuvent contenir de nombreux gènes, ce qui signifie que l'anomalie génétique responsable de l'affection n'aura peut-être pas été déterminée. Dans le cadre de la recherche de marqueurs génétiques, il convient de comparer l'ADN du candidat avec des échantillons d'ADN provenant de membres de sa famille qui sont porteurs de la maladie et de membres en bonne santé.

On peut utiliser l'analyse de liaison pour déceler plusieurs maladies héréditaires, y compris le cancer du sein et l'hémophilie. Il convient de noter que l'analyse de liaison n'est pas exacte à 100 p. 100 et n'a de sens que lorsqu'on examine l'information sur un patient en tenant compte de ses antécédents familiaux. Une analyse de liaison positive pour le cancer du sein où une région chromosomique appelée BRCA-1 est examinée pourrait signifier que les risques de cancer du sein sont de l'ordre de 80 p. 100, mais uniquement si le résultat est corroboré par les résultats des tests effectués sur d'autres membres de la famille porteurs et non porteurs.

II.1.5) EMPLOI DU TEST DIRET OU DE L'ANALYSE DE LIAISON GENETIQUE

TEST PRÉDICTIF

Le test direct et l'analyse de liaison génétique peuvent être employés pour identifier les personnes qui risquent d'attraper une maladie, et ce, avant l'apparition des symptômes. On appelle ce genre de test un *test prédictif*. On l'effectue afin **d'examiner les troubles familiaux attribuables à une anomalie génétique connue**.

Mais que vous révèle un test prédictif? Un test précis vous indiquera si vous *présentez ou non une mutation génétique liée à la maladie*. Vous contracterez ou non la maladie selon le mode d'interaction de la mutation avec plusieurs autres facteurs. En d'autres termes, ce n'est pas parce qu'il y a mutation que la personne contractera obligatoirement la maladie, bien que dans de nombreux cas, les risques soient relativement élevés

Par ailleurs, un test négatif ne garantit pas à la personne qu'elle n'aura pas la maladie en question, mais qu'elle court le même risque de contracter la maladie par une *mutation acquise* que d'autres personnes n'ayant pas hérité de la mutation. Souvenez-vous que plus de 90 p. 100 des cancers sont provoqués par des mutations acquises. De plus, un membre d'une famille ayant des antécédents concernant un trouble génétique donné peut avoir hérité d'un gène de susceptibilité différent et inconnu non décelé par le test.

a) DÉPISTAGE DES PORTEURS

Parfois, les gens **sont porteurs d'une partie du patrimoine génétique d'un trouble héréditaire, mais ne sont pas affectés par la maladie elle-même**. C'est pourquoi, au sein d'une même famille ayant des antécédents d'une maladie héréditaire donnée, des membres bien portants peuvent avoir des enfants atteints du trouble en question.

On peut avoir recours au dépistage des porteurs pour aider les couples en bonne santé dont l'un ou les deux conjoints ont des antécédents familiaux d'un certain trouble héréditaire. Le test peut permettre de déterminer si l'un d'entre eux est porteur d'une partie du patrimoine génétique du trouble et donc si le risque de donner naissance à un enfant affecté est élevé. Les tests directs ou l'analyse de liaison peuvent être effectués pour des maladies comme la fibrose kystique, la drépanocytose (présence d'une hémoglobine anormale, et problèmes sanguins) ...

b) TEST DIAGNOSTIC

Examen du nouveau-né

Il est possible de vérifier la présence de mutations génétiques, l'absence de protéines et de produits géniques ou encore la présence de protéines ou de produits géniques anormaux dans le sang prélevé de nouveau-nés. Ainsi, on peut effectuer des tests pour déceler la présence d'un enzyme appelé phénylalanine hydroxylase. L'absence de cet enzyme entraîne une affection rare mais traitable appelé **phénylcétonurie** (trouble de la transformation de la phénylalanine). Le test direct et l'analyse de liaison pour d'autres affections peuvent également être effectués, entre autres le test pour le **syndrome de Down** (plus connu sous le nom de trisomie 21 ou mongolisme), provoqué par la présence d'un chromosome 21 surnuméraire

Test prénatal

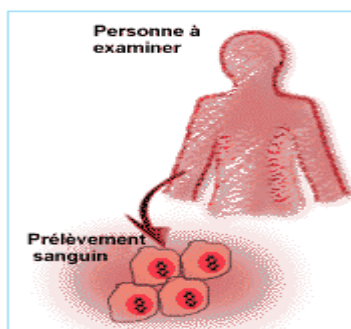
Il est possible d'effectuer des tests directs et des analyses de liaison sur un fœtus avant sa naissance afin de prédire et de diagnostiquer des troubles héréditaires. Pour ce faire, on analyse l'ADN tiré des cellules fœtales comme on isole et analyse l'ADN de cellules humaines adultes. Il est cependant plus difficile de prélever des cellules fœtales que des cellules sur un adulte. Dans ce dernier cas, on peut utiliser les globules blancs obtenus d'un prélèvement sanguin. Actuellement, on obtient les cellules fœtales en procédant à une **amniocentèse** ou à un **prélèvement des villosités chorales**. Ces deux techniques prévoient l'extraction de

cellules fœtales du liquide amniotique ou du placenta à l'aide d'une aiguille enfoncée dans l'utérus de la mère.

Malheureusement, ces deux procédures présentent un faible risque de fausse couche. C'est pourquoi l'on recherche actuellement des méthodes plus sûres. On pourrait par exemple tirer parti du fait que les cellules fœtales s'écoulent dans le courant sanguin de la mère -- à raison d'une cellule sur un million de cellules sanguines de la mère. En novembre 1996, les scientifiques de l'Université de Californie ont annoncé qu'ils avaient réussi à isoler des globules rouges fœtaux immatures du courant sanguin de la mère, qui pourraient servir pour des tests génétiques.

II.1.6) Dépistage génétique de maladies

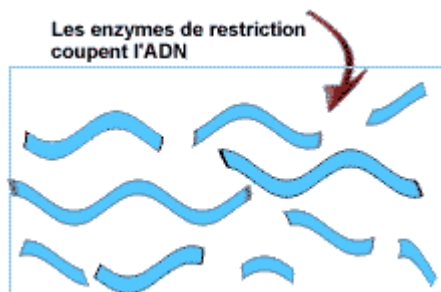
1. Prélèvement de cellules de la personne.



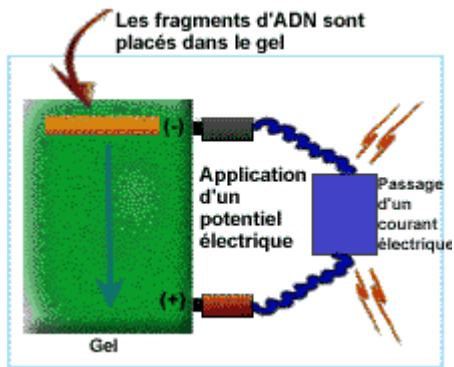
2. Extraction de l'ADN des cellules.



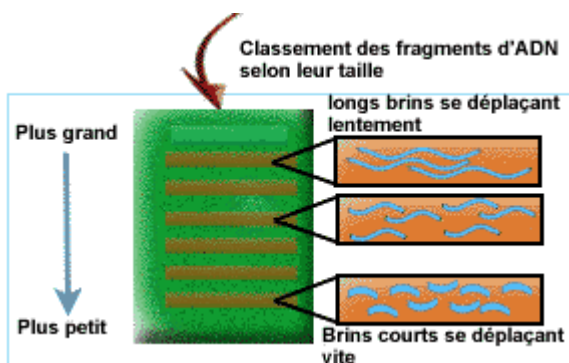
3. L'ADN est coupé en fragments bicaténaires.



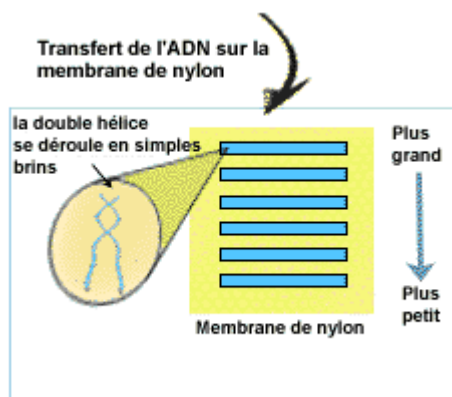
4. Électrophorèse en gel des fragments d'ADN.



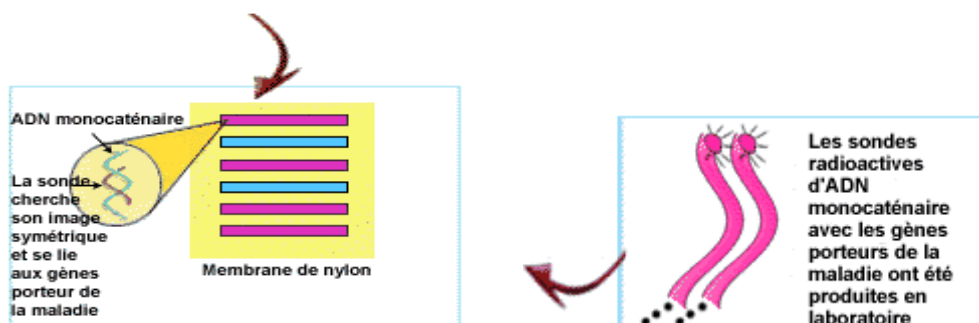
5. Les morceaux d'ADN courts ont parcouru une plus grande distance dans le gel que les fragments longs.



6. La membrane de nylon est placée au-dessus du gel et absorbe l'ADN. Au cours du processus, la double hélice d'ADN se déroule en simples brins.



7. Ajout de sondes d'ADN radioactives.



8. La pellicule photographique détecte l'ADN lié aux sondes radioactives.



II.2) Les empreintes génétiques

La séquence complète d'ADN d'une personne est composée de plus de trois milliards de nucléotides. Bien que la séquence soit identique dans une proportion de 99,9 p. 100 à celle des autres êtres humains, il reste 0,1 p. 100, soit quelque trois millions de nucléotides, qui est propre à la personne en question. Par conséquent, à l'exception des jumeaux monozygotes, dont les séquences d'ADN sont pareilles, personne n'a exactement le même ADN que son voisin. Cette distinction génétique peut s'avérer un puissant outil pour *identifier des personnes*, au même titre que les empreintes digitales propres d'une personne. Comme presque toutes les cellules du corps d'une personne contiennent la même série complète d'ADN, l'ADN isolé de sang séché, de sperme ou même d'un cheveu retrouvé sur les lieux d'un crime peut être comparé à l'échantillon d'ADN prélevé d'un suspect et permet de prouver si ce dernier était présent sur les lieux du crime, de la même façon que le permettraient les empreintes digitales.

Guy Paul Morin, de l'Ontario, au Canada, a été condamné à tort pour meurtre, puis disculpé grâce au test d'ADN plus de 10 ans plus tard.¹ À l'aide d'une procédure appelée amplification en chaîne par la polymérase (ACP), qui reproduit rapidement l'ADN, on peut analyser l'ADN sur de minuscules quantités de tissus, ce qui rend la tâche difficile au criminel qui veut faire disparaître toute preuve des lieux d'un crime.

Les empreintes génétiques peuvent également être utilisées dans les tests de paternité pour identifier les parents biologiques d'un enfant ou à la suite d'accidents graves, de catastrophes ou de guerres pour identifier les morts. Cette puissante technologie n'est pas seulement utile pour identifier les humains. Le Service canadien des forêts en Colombie-Britannique met actuellement au point des méthodes pour « établir les empreintes génétiques » d'arbres précieux de sorte à pouvoir les retracer en cas de vol.

II.2.1) Minisatellites

En théorie, on peut établir les empreintes génétiques en séquençant des génomes entiers et en les comparant pour voir s'ils correspondent. Mais il faudrait des années pour déterminer la séquence exacte des trois milliards de nucléotides qui composent l'ADN d'une personne, procédure qui serait par ailleurs extrêmement coûteuse. Heureusement, la différence entre les gens se concentre dans des régions particulières de leur ADN. Ces régions, constituées de courts segments de 15 nucléotides hautement répétés, s'appellent *minisatellites*.

L'emplacement et le nombre de répétitions de tout minisatellite particulier sont fort variables. La probabilité que deux personnes sans liens familiaux aient un minisatellite possédant le même emplacement et le même nombre de répétitions est d'environ 1 sur 10 milliards.

Lorsque plusieurs minisatellites sont analysés en même temps, la probabilité diminue encore et est à toutes fins pratiques de zéro. Il nous suffit donc de localiser certains de ces minisatellites et d'en déterminer la longueur.

Celle-ci donne une indication du nombre de répétitions de la séquence de 15 nucléotides.

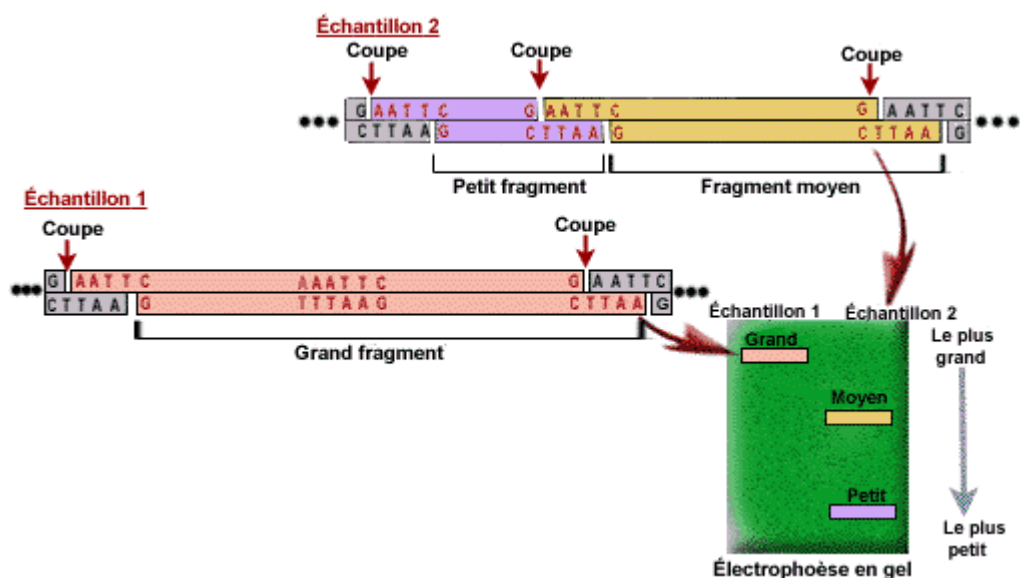
La technique employée dans le dépistage génétique de maladies est similaire à celle des empreintes génétiques.

II.2.2) RFLP

Tout d'abord, l'ADN est découpé à l'aide d'enzymes appelés **endonucléases de restriction**, qui coupent l'ADN en des sites distinctifs. Comme l'emplacement de ces sites varie d'une personne à l'autre, il en sera de même pour la longueur des fragments qui en résultent. Dans l'illustration ci-après, l'enzyme utilisée, l'*Eco RI*, reconnaît la séquence GAATTC (sa séquence complémentaire CTTAAG correspond à GAATTC à l'envers!) et coupe entre le G et le premier A.

Les fragments sont ensuite classés selon leur taille, puis incubés avec des sondes d'ADN. Les sondes ont été conçues de sorte à se lier à des minisatellites particuliers. En général, on utilise simultanément cinq à dix types de sondes qui reconnaissent différents minisatellites.

Lorsqu'une sonde se lie à un fragment d'ADN, elle permet de le détecter.



On compare les fragments détectés des deux échantillons. Si les fragments sont tous de la même taille, on peut conclure que les deux échantillons proviennent du même individu. Enfin, on utilise des ordinateurs pour calculer la probabilité que cette correspondance soit le fruit d'une pure coïncidence. Ce calcul peut être très compliqué, puisque la fréquence de différentes compositions d'ADN de différents gènes varie selon la population. En général, les probabilités d'une telle coïncidence sont de 1 sur plusieurs milliards, ce qui fait des empreintes génétiques une méthode d'identification des personnes extrêmement fiable.

II.2.3) PUCE d'ADN : Des diagnostics immédiats

La puce mise au point par Affymetrix à Santa Clara (Californie), la Genechip ou puce à ADN devrait bouleverser les méthodes de travail de tous ceux qui, à un titre ou un autre, s'occupent des questions de santé. Après-demain, dès demain peut-être, ce petit bijou pas plus grand qu'une boîte d'allumettes qui combine les trouvailles des technologies de l'information et les acquis des sciences de la vie permettra de diagnostiquer en un temps record, de quelques heures à quelques minutes, la prédisposition ou le développement de maladies génétiques chez des patients, de repérer l'évolution prévisible de leurs «fondamentaux héréditaires» (tendances à l'obésité, calvitie, etc.) mais aussi de détecter la présence de virus dans l'eau, dans l'air, dans les aliments, ou bien l'intrusion des fameux organismes génétiquement modifiés (OGM) dans les produits issus de l'industrie agroalimentaire. Le matériel de fabrication de cet outil de rêve ou de cauchemar ressemble grosso modo à celui des classiques semi-conducteurs de l'informatique, mais en lieu et place des circuits, les puces sont «gravées» avec du «vivant», des morceaux d'ADN, le support du programme génétique humain.

a) Fonctionnement des biopuces

Les plus courantes utilisent les techniques de la photolithographie.

La surface des puces ADN excède rarement quelques millimètres de côté avec un support en verre ou en silicium. On y fixe, par réaction chimique, des «sondes», c'est-à-dire de courts brins d'ADN dont on connaît la séquence (soit l'agencement particulier des quatre bases, A-T, C-G).

On peut fixer des sondes synthétisées à l'avance ou, comme Affymetrix, les synthétiser *in situ*, directement sur la puce. Il faut alors déposer les couches successives des quatre bases sur les sites correspondant aux séquences génétiques souhaitées. La technique est celle de la photolithographie: grâce à un masque on éclaire la zone à activer alors que les autres sont opaques. L'opération est répétée pour chaque base et autant de fois qu'il y a de sondes.

b) Le développement des puces à ADN dans l'avenir

L'existence des biopuces renforce le processus d'industrialisation des outils de la biologie.

L'avancée technologique est telle qu'on pourra bientôt mettre le génome entier d'un mammifère sur une seule puce. Cela rend brutalement caducs les arguments rassurants qui avaient cours dans les débats bioéthiques, postulant qu'il était impossible d'obtenir le profil génétique complet d'un individu et qu'au pire, en cas de réalisation, le coût en serait bien trop élevé pour être généralisé. Une fois de plus, comme pour le clonage, comme pour la procréation médicalement assistée, la technique prend l'éthique de court.

L'utilisation de ces outils en génétique humaine va amplifier une vision déterministe du tout génétique selon laquelle nos prédispositions aux maladies communes (cancer, diabète, maladies cardio-vasculaires...), notre façon de répondre différemment aux médicaments, nos troubles métaboliques mais aussi nos comportements (sociaux, culturels, sexuels) ont un fondement génétique. Tout se jouerait sur le 0,1 % de différence en séquence que deux humains ont entre eux. Les biopuces permettent de déterminer au moins l'essentiel, sinon la totalité, de cette différence. La perspective semble exaltante : enfin des diagnostics et des traitements à la carte !

Or il n'est pas sûr qu'il y ait des gènes majeurs dans ces maladies communes, les gènes de susceptibilité ont un risque relatif très faible et les mutations ont des variabilités de pénétrance. Vu la très grande variabilité interindividuelle qui résulte de l'interaction permanente entre les trois domaines le terrain génétique, les facteurs épigénétiques et les facteurs dits environnementaux, rien ne dit que les biopuces puissent discerner des catégories

d'individus différentes et d'évaluer de façon fiable un risque. La physiopathologie et la pratique de la médecine n'ont pas forcément à gagner à cette vision de la génétique.

La définition du profil génétique individuel va générer une masse d'informations, et là est bien la question : comme pour les tests génétiques, dont certains sont inutiles et d'autres mal interprétés, que fera-t-on de cette information démultipliée ? Comment va-t-on analyser les résultats, évaluer leur utilité, leur portée ? Quelles seront les conséquences de cette nouvelle connaissance et les droits pour la personne et son entourage sur ces informations ? Ne risque-t-on pas de développer des pratiques discriminatoires qui seront présentées comme un élément de médecine préventive, autrement dit dans l'intérêt de la personne ?

Ce développement technique explosif ne fait qu'aggraver la question de la confidentialité des données génétiques. Sans doute, en France, un cadre juridique existe, qui devrait permettre d'empêcher l'usage individuel de l'information génétique et interdire la réalisation de tests prédictifs à des fins de discrimination économique ou sociale. Mais comme le souligne le Conseil d'Etat (1) : «Après la lutte contre les inégalités sociales, comment prévenir une prise en compte dangereuse des inégalités biologiques ?» C'est dans la mise en oeuvre des superbes principes (droit à la non-discrimination et à la protection de la confidentialité des données génétiques) que le bât blesse.

Quant au principe de confidentialité des données génétiques, il est sans doute reconnu par l'article 7 de la Déclaration universelle sur le génome humain et les droits de l'homme, mais avec une portée très relative, puisque l'article 9 prévoit que la loi peut limiter la confidentialité «pour des raisons impérieuses». L'Histoire nous l'a appris : les Etats ont une imagination sans bornes pour découvrir ces «raisons impérieuses».

II.3) Les marqueurs génétiques

Dans ce cours, le terme *marqueur* sera pris dans le sens de *marqueur génétique*, c'est-à-dire qu'il sera toujours synonyme de *locus marqueur*. Un locus marqueur est un locus polymorphe qui renseigne :

- sur le génotype de l'individu qui le porte ; c'est à ce titre que les marqueurs sont utilisés en génétique des populations ;
- . - sur le génotype d'un (de) locus voisin(s) ; les applications vont ici du clonage positionnel à la sélection assistée par marqueurs.

Les plus courants de ces marqueurs génétiques sont, selon une terminologie consacrée, les marqueurs *morphologiques*, les marqueurs *moléculaires* (au niveau de l'ADN) et les marqueurs *biochimiques* (isozymes, protéines). Ce dernier terme est malheureusement ambigu, puisqu'il désigne dans d'autres contextes des molécules dont la présence indique un stade de différenciation ou un état physiologique. Nous ne l'emploierons ici que dans l'acception génétique.

Nous supposerons connus les grands principes de l'analyse des isozymes, et traiterons essentiellement des marqueurs moléculaires. Les marqueurs issus de l'électrophorèse bidimensionnelle des protéines (EBD) seront toutefois évoqués.

Qu'est-ce qu'un « bon » marqueur génétique ?

Un marqueur génétique « idéal » est :

- polymorphe : la « matière première » du généticien est la variabilité ;
- multiallélique ;
- codominant : l'hétérozygote présente simultanément les caractères des deux parents homozygotes ; il peut donc être distingué de chacun des homozygotes parentaux ;

- non épistatique : son génotype peut être « lu » à partir de son phénotype quel que soit le génotype aux autres locus. La codominance et la non-épistasie peuvent être respectivement définies comme l'absence d'interactions intra et interlocus ;

II.3.1) Les Marqueurs moléculaires

- « neutre » : les substitutions alléliques au locus marqueur n'ont pas d'autres effets phénotypiques (et donc éventuellement sélectifs) que ceux qui permettent de déterminer son génotype. Dans leur très grande majorité, les polymorphismes moléculaires sont neutres ;
- insensible au milieu : le génotype peut être inféré à partir du phénotype quel que soit le milieu.

Les marqueurs morphologiques répondent mal à ces critères. Peu polymorphes, en général dominants, ils interfèrent souvent avec d'autres caractères, et peuvent être influencés par le milieu. En outre, même s'ils sont très nombreux chez certaines espèces (plusieurs centaines chez le riz ou le maïs), peu d'entre eux peuvent être conjointement polymorphes dans une descendance donnée.

En revanche les marqueurs biochimiques ou moléculaires ont, pour la plupart, toutes ces qualités. Les limitations majeures des isozymes sont le faible nombre de locus susceptibles d'être révélés (rarement plus de 30 à 40 locus chez le riz et le maïs, et tous ne sont pas polymorphes dans un fonds génétique donné), et le fait qu'il y ait une certaine spécificité d'organe : tous les enzymes ne sont pas présents ou actifs dans tous les organes. Les protéines polymorphes révélées en EBD peuvent être plus nombreuses, mais dépendent également de l'organe considéré. Au contraire, les marqueurs au niveau de l'ADN sont en nombre quasiment illimité et sont indépendants du stade ou de l'organe analysé, puisque l'ADN est le même dans tous les tissus. De plus ils ont l'avantage d'être plus directement utilisables pour les applications ultérieures en biologie moléculaire.

Caractéristiques

Selon Bretting et Widrechner (1995), les conditions idéales d'un marqueur génétique sont les suivantes:

- être polymorphe, afin de pouvoir facilement différencier les individus ou les lignées ;
- être relativement neutre, que ce soit au niveau de la valeur du caractère étudié que de la valeur sélective ;
- être codominant, afin de pouvoir distinguer les hétérozygotes des homozygotes ;
- être un caractère mendélien à hérédité simple
- ne pas être pléiotropique ou épistatique
- être dispersé le long du génome
- ne pas être lié à un autre marqueur
- être stable quel que soit le stade du développement
- ne pas avoir d'impact sur la croissance ou la reproduction sexuée

- être facilement observable, sans ambiguïté possible
- être peu coûteux

a) Les variations nucléotidiques fréquentes

Les SNP (*single nucléotide polymorphisme*). Les SNP sont des mutations faux-sens non ponctuelles retrouvés sur la séquence nucléotidique de l'ADN (dans les régions introniques et exoniques). La différence entre les SNP et les mutations faux-sens, réside

dans le fait que la substitution entraîne ou non un changement de l'acide aminé et que cette variation est très fréquente dans la population. Il est important de retenir que les SNP expriment une variabilité intra-population.

- **Les séquences répétées.** Les gènes humains sont noyés au milieu d'une masse considérable de séquences d'ADN répétées. Une manière de classer les types de séquences d'ADN répétées est de considérer

b) Les marqueurs de séquences d'ADN répétées en tandem

Les marqueurs répétés en tandem sont utilisés pour l'analyse de liaison génétique (Schuler et al. 1996, Vance et al. 1998). Les premiers marqueurs utilisés étaient représentés par des polymorphismes de restriction ou **RFLP** (Restriction fragment length polymorphisms) (Kan et al. 1978, Botstein et al. 1980). Ils reposent sur le fait que le changement d'une paire de base peut créer ou éliminer le site de coupure d'une enzyme de restriction. La digestion par l'enzyme de restriction révèle donc les différences existantes entre les individus. Cette méthode, longue et fastidieuse a été utilisée avec succès dans la maladie de Huntington (Gusella et al. 1983).

Par la suite, l'identification en 1985 des mutations de répétition ou **VNTR** (Variable Number of Tandem Repeats) a permis de détecter un pourcentage d'hétérozygotie beaucoup plus élevé que celui des RFLP (Nakamura et al. 1987). Les VNTR sont dus à des différences dans le nombre de copies de séquences répétées en tandem, dont le motif de base est supérieur à 10 nucléotides. Ils se sont révélés très intéressants par leur localisation dispersée sur plusieurs chromosomes et par leur haut degré de variation. Ils sont cependant largement supplantés à présent par une autre catégorie de mutations de répétition, où le motif de base répétée en tandem est plus court (1 à 5 nucléotides) : ce sont les **microsatellites** ou **STR** (Short Tandem Repeats). Les plus fréquents et les plus étudiés sont les microsatellites à 2 nucléotides $(CA)_n$ et $(GT)_n$ dont la variation consiste en une série d'allèles de taille comprise entre 24 et 80 paires de bases (Weber 1990). Ils sont remarquablement abondants (25 000 à 130 000 sur l'ensemble du génome humain) et uniformément distribués sur les chromosomes, avec un exemplaire tous les 25 à 100 kb d'ADN génomique. La dernière carte établie par le Génethon fait état de 5264 microsatellites de type $(CA)_n$ répertoriés et localisés de façon très précise sur les chromosomes (Dib et al. 1996). D'autres microsatellites largement utilisés sont constitués de répétitions de motifs de 4 paires de bases le plus souvent de type $(GATA)_n$ (Edwards et al. 1991). Ils proviennent pour la majorité du "Cooperative Human Linkage Center" (CHLC).

c) Les marqueurs de séquences d'ADN répétées dispersées

Dans un objectif de synthèse des connaissances acquises sur ces séquences d'ADN répétées dispersées, nous ne décrivons que les deux familles les plus représentatives.

Le premier type de séquence répétée dispersée appartient à la catégorie des **SINEs** (Short INterspersed Elements), l'archétype étant constitué par la **famille Alu**. Cette famille est représentée par plusieurs centaines de milliers de copies par génome haploïde. Elles sont présentes dans l'ensemble du génome, avec en moyenne une copie Alu tous les 5 kpb. Il s'agit de séquences répétées courtes (environ 300 pb) ayant probablement pour ancêtre évolutif un petit ARN. Les éléments Alu ont une structure dimérique et sont insérés dans le génome avec duplication du site d'insertion (quelques nucléotides). Ils se terminent par une queue riche en résidus désoxy-adényliques (dA) à leur extrémité 3'. Dans 5 à 10% des cas, ils sont associés à des microsatellites (de types di, tri ou tétranucléotides). Il s'agit d'éléments rétrotransposables,

ou mobiles, ce qui en fait une source considérable de polymorphisme potentiel pour le génome humain. Leur fréquence et leur caractère répétitif permettent parfois des événements de recombinaison illégitime intrachromosomique conduisant à des délétions, avec ou sans conséquence phénotypique. Parfois les éléments Alu qui sont présents dans les introns sont transcrits en même temps que les exons des gènes où ils résident. Leur analogie de structure avec les petits ARN explique qu'ils contiennent parfois les éléments promoteurs internes, ce qui les rend transcritibles également par l'ARN polymérase III. D'où leur tendance à se répandre dans le génome comme des rétroseudogènes par transcription inverse à partir d'ARN et insertion de l'ADNc ainsi formé.

Le second type de séquences répétées dispersées appartient à la catégorie des **LINEs** (Long INterspersed Elements). Il s'agit de la **famille L1Hs** (Hs pour homo sapiens). Cette fois-ci, les éléments dans leur version la plus longue représentent environ 7 kb. Plus de 100 000 copies par génome humain sont détectables et apparaîtraient au cours de la transcription inverse de l'ARN en ADNc. Beaucoup des caractéristiques des séquences Alu peuvent être répétées à leur propos (queue poly dA, duplication du site d'insertion). Mais à la différence des éléments Alu, ils comportent deux longues phases ouvertes de lecture qui codent apparemment pour des protéines assurant la retrotransposition des séquences L1.

Les séquences Alu et L1Hs représentent près de 10% du génome humain et sont représentatives de nombreuses autres familles de répétitions qui ont des fréquences de répétition généralement beaucoup plus faibles, mais qui n'en constituent pas moins une masse considérable de séquences d'ADN susceptibles d'engendrer des polymorphismes dans le génome. On ne citera, que les nombreux rétrogènes que l'on trouve un peu partout dans le génome humain et qui sont le résultat, comme leur nom l'indique, de la transcription inverse en ADNc d'ARN messagers. Il s'agit généralement de pseudogènes. On peut ajouter la famille THE-1 (Transposons-like Human Element), qui fait partie de la catégorie des LINEs. Ces séquences, toutes catégories confondues, se trouvent dans les régions intergéniques et également dans les introns.

La présence de centaines de familles de séquences répétées dispersées à des centaines de milliers de loci pose évidemment, en dehors de leur intérêt comme source de mutations, un certain nombre de questions qui n'ont pas encore reçu de réponses.

La mise en évidence de nouvelles mutations (mutations ponctuelles) ou de mutations connues (SNP ou séquences répétées), utilise des méthodes de diagnostic différentes.

d) Les méthodes de détection des variations nucléotidiques

De nombreuses méthodes ont été mises au point pour la détection des mutations. Cependant on peut différencier deux types de méthode permettant soit la recherche de nouvelles mutations soit le criblage de variations nucléotidiques connues. Dans un souci de clarté nous séparerons ces deux types de méthodes, mais il est important de noter que les méthodes d'identification des nouvelles mutations sont aussi applicables au criblage de mutations connues (l'inverse n'étant pas envisageable). De plus, nous développerons la méthode de détection des mutations liées aux séquences répétées en tandem et plus précisément les marqueurs microsatellites. Nous ne développerons pas dans ce manuscrit les méthodes permettant l'analyse des RFLP ou des séquences répétées dispersées.

Méthodes d'identification de nouvelles mutations

Les plus courantes consistent à rechercher d'éventuelles mutations sans chercher à la localiser précisément : ce sont les méthodes utilisées avant le séquençage qui ont l'avantage d'être rapide, mais qui ne permettent pas la détection de 100% des mutations. Ces méthodes et leurs principes généraux sont :

La SSCP (Single-Strand Conformation Polymorphism) (Kim et al. 1992). Cette technique consiste à analyser deux molécules simple brin produites par la dénaturation de l'ADN, qui adoptent chacune en se renaturant une structure secondaire (conformation) qui est dépendante de leur séquence nucléotidique. Ainsi, entre deux ADN dont les séquences ne diffèrent que d'une seule paire de base, il peut apparaître des changements de structure secondaire. La SSCP est une méthode d'électrophorèse dont le but est de révéler la migration anormale d'un ADN mutant. Il est à noter que la SSCP devient une méthode efficace lorsque différentes températures de migration sont testées dans des conditions optimisées (Dianzani et al. 1993, Cotton et al. 1997).

la DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) (Barbetti et al. 1992). Cette méthode repose sur la mise en évidence d'une différence de stabilité d'un fragment d'ADN témoin par rapport à un ADN muté. Les deux brins d'ADN témoin sont parfaitement complémentaires (homoduplex). Par contre la présence d'une mutation sur un des brins provoque un mésappariement dans cette séquence d'ADN (hétéroduplex). Cet ADN est moins stable que les brins d'ADN parfaitement complémentaires (sa température de fusion est inférieure). L'ADN normal et l'ADN muté migrent dans un gel soumis à un gradient de concentration en formamide (gel dénaturant).

Ensuite, les ADN pourront être différenciés par la technique de Southern. L'ADN normal reste stable et ne se dissocie qu'à de fortes concentrations de formamide sa dénaturation provoquant l'arrêt de la migration. Par contre, l'ADN muté est dénaturé plus rapidement ralentissant ainsi, sa migration.

L'analyse des hétéroduplex (Kourkine et al. 2002). L'analyse d'hétéroduplex permet de détecter la présence de mésappariements dans la molécule hybride d'ADN (hétéroduplex) formée à partir d'un brin normal d'un sujet normal et d'un autre brin contenant la mutation. La présence de mésappariements est détectée soit à l'aide de produits chimiques (carbodiimide, tétr oxyde d'osmium ou hydroxylamine) qui vont couper spécifiquement l'hétéroduplex au niveau des mésappariements à partir d'enzyme comme la RNase. La carbodiimide va réagir avec un G ou T mal apparié, l'hydroxylamine avec un C, le tétr oxyde d'osmium avec un C ou un T. Il est donc possible d'identifier la présence d'une mutation et même, dans certains cas, de déterminer la modification nucléotidique de la mutation. Cependant, cette méthode ne semble pas optimale du fait de la faible spécificité de coupure de ces agents.

Ces techniques, bien que rapides, nécessitent dans tous les cas une vérification de la présence de la mutation par séquençage. Pour cette raison et depuis l'apparition des séquenceurs automatiques, de nombreuses équipes préfèrent utiliser cette technique de détection des mutations sans passer par la première étape de criblage des gènes. Le séquençage représente en effet un moyen très efficace de détection des mutations et est devenu aussi rapide que les précédentes. Le seul désavantage du séquençage automatique reste son coût relativement élevé.

La DHPLC (Denaturing High-Performance Liquid Chromatography) est un nouvel outil de détection de mutations inconnues (Kuklin et al. 1997/98, Wagner et al. 1998, Yokomizo et al. 1998, Hecker et al. 1999). La détection des SNP par DHPLC est réalisée par la discrimination des hétéro et homoduplexes présents dans l'échantillon PCR à tester. Le principe de la méthode repose sur une chromatographie ionique en phase reverse par appariement d'ion. Les ions phosphates des molécules d'ADN sont chargés négativement. La phase stationnaire de la colonne de la DHPLC est électriquement neutre et hydrophobe.

Afin d'aider à l'absorption des fragments d'ADN à la phase stationnaire, une molécule jouant le rôle d'agent d'appariement, le triéthylammonium acétate (TEAA), est utilisé. Ainsi la matrice hydrophobe est convertie en une matrice échangeuse d'ions, le TEAA faisant un pont avec l'analyte. Les ions positifs du TEAA interagissent avec les charges négatives des ions phosphates de l'ADN, tandis que la chaîne alkyl de la molécule de TEAA interagit avec la surface hydrophobe de la colonne (Billes hydrophobes). Plus le fragment d'ADN est grand, plus il est riche en charges négatives, en conséquence les grands fragments d'ADN vont interagir avec un plus grand nombre de molécule de TEAA, et seront plus fortement absorbés à la phase stationnaire. Dans un même temps, des conditions dénaturantes en température sont installées. Les fragments d'ADN portant un ou plusieurs SNP sont plus instables vis-à-vis de la fixation à la phase stationnaire que ceux qui n'en ont pas. Leur détection par les UV ou par fluorescence nécessite leur décrochage de la phase stationnaire. Pour favoriser cela un autre réactif chargé négativement l'acétonitrile (ACN) est ajouté afin d'entrer en compétition avec l'ADN fixé. De ce fait, l'interaction hydrophobe entre la phase stationnaire et l'ADN est réduite avec l'augmentation du pourcentage d'acétonitrile.

Les fragments hétérozygotes rendus instables par les conditions dénaturantes sont relargués plus tôt que les fragments homozygotes plus stables dans leurs interactions avec la molécule de TEAA. L'analyse par DHPLC nécessite l'établissement d'un gradient gérant le pourcentage des deux tampons (le TEAA, et l'ACN), et la détermination fine du Tm des fragments étudiés.

Le séquençage automatique d'ADN. Les méthodes actuelles de détermination de la séquence d'une molécule d'ADN reposent sur la production d'un ensemble de fragments aussi complets que possible, possédant une extrémité en commun et dont l'autre extrémité correspond à un nucléotide défini (A, C, G ou T) marqué par un fluorochrome spécifique de chacun des nucléotides (dès l'incorporation du fluorochrome l'extension est arrêtée). Ces fragments sont ensuite séparés selon leur taille (par électrophorèse) et la séquence est ensuite déduite en fonction de leur ordre de détection. La détection des fragments par séquençage automatique est basée sur l'analyse des fragments marqués par des molécules fluorescentes (fluorescéine, NBD (4-chloro-7-nitrobenzo-2oxa-1-diazole), rouge Texas et tétraméthylrhodamine).

Les séquenceurs automatiques possèdent un laser et un système de filtres tournants permettant à la fois l'excitation et l'émission des longueurs d'ondes des fluorochromes. Cette rotation des filtres est organisée de telle sorte qu'un fluorochrome particulier est détecté spécifiquement lors de chaque balayage par le laser du gel. Au bout de quatre balayages successifs, un ensemble de données décrivant le contenu de chacune des pistes d'électrophorèse est ainsi obtenu. La fréquence de balayage est telle qu'en moyenne une trentaine de points par fragment est obtenue.

Dans la stratégie de notre laboratoire, le séquençage automatique s'est avéré le moyen le plus précis et rapide pour la recherche de nouvelle mutation mais aussi pour le criblage de certaines mutations connues (ou variations nucléotidiques fréquentes).

e) Méthodes de criblage des variations nucléotidiques fréquentes

Comme nous l'avons expliqué auparavant la détection des variations nucléotidiques fréquentes peut être réalisée en utilisant les mêmes techniques que celles utilisées pour la recherche de nouvelles mutations. Cependant, trois autres techniques spécifiques à l'identification de ces variations déjà identifiées sont couramment utilisées.

La digestion enzymatique. Les enzymes de restriction sont des endonucléases coupant de manière reproductible l'ADN double brin, quel que soit son origine. La propriété qui les caractérise est de reconnaître une séquence spécifique d'ADN. L'action de l'enzyme dépend de son type. Il existe trois types d'enzymes différents : 1) les enzymes qui reconnaissent une séquence et qui s'arrêtent de manière aléatoire à 1000-5000 pb en aval en libérant quelques dizaines de nucléotides (*enzymes de Type I*). 2) les enzymes qui coupent l'ADN au niveau de la séquence reconnue (*enzymes de Type II*). 3) les enzymes qui coupent l'ADN une vingtaine de paires de bases en aval après avoir reconnu la séquence (*enzymes de type III*).

Tous les SNP ne sont pas localisés à un site de restriction d'une enzyme de type II, donc cette technique reste complémentaire au séquençage automatique.

Les ASO (oligonucléotidiques allèles-spécifiques). Cette technique fait appel à l'hybridation classique de Southern avec comme sonde des oligonucléotides (polynucléotides simple brin synthétiques). Elle est utilisée pour analyser rapidement un grand nombre d'individus pour une mutation bien précise. Quand la séquence nucléotidique d'un locus polymorphe a été déterminée, des oligonucléotides homologues à chacun des allèles sont synthétisés, d'où le nom d'oligonucléotides allèles-spécifiques ou ASO.

Le SNaPshot. Cette nouvelle technique a été mise au point pour identifier spécifiquement les mutations faux-sens et les SNP dont la localisation est connue. Cette technique est basée sur l'extension d'un oligonucléotide choisit un nucléotide en amont du site muté et consiste à l'incorporation du ddNTP correspondant à la base considérée comme site variable (dès l'incorporation du ddNTP l'extension est arrêtée).

f) Détection des séquences répétées en tandem (microsatellites)

Les marqueurs microsatellites permettent d'impliquer un gène dans une maladie par la recherche d'une association allélique significative entre un marqueur polymorphe situé près du gène candidat et le trait morbide (Haines 1998). Ceci repose sur le postulat que les déséquilibres de liaison (c'est-à-dire une association plus fréquente que ne le voudrait le hasard) ne s'observent que dans des limites de proximité étroite (0,1 cM). Par conséquent il est nécessaire de connaître la localisation chromosomique du gène suspecté et de trouver un marqueur très proche du gène en question (Thompson et al. 1991, Sten-Linder et al. 1991).

La détection des allèles pour chaque individu à un marqueur est basée sur la variation de taille du marqueur microsatellite (le nombre de répétition augmente ou diminue selon les individus). D'un point de vue technique, ces polymorphismes sont étudiés par la technique d'amplification par des séquences répétées en utilisant des amorces marquées situées dans les régions flanquantes les répétitions. Les échantillons amplifiés par PCR sont analysés par un séquenceur automatique (électrophorèse en gel de polyacrylamide), le seul capable de distinguer des variations de 2 paires de bases. L'utilisation des microsatellites $(GATA)_n$ est peut-être plus facile que celle des polymorphismes $(CA)_n$ car une différence de 4 paires de

bases est plus facile à lire qu'une différence de 2 paires de bases (Vance et Ben Othmane 1998).

Ces différentes méthodes d'identifications des variations nucléotidiques du génome font appels à différentes stratégies ou hypothèses d'investigation, que nous allons présenter dans le prochain chapitre.

II.4) Diagnostic Prénatal

Le diagnostic prénatal répond à un besoin d'identifier tôt durant la grossesse un certain nombre d'anomalies foetales ou maladies génétiques. Réalisable depuis les années soixante, le diagnostic prénatal des maladies génétiques n'est devenu pratique courante de l'évaluation des grossesses à risque qu'au cours des trois dernières décennies. Dès 1976 trois études multi-sites, réalisées en Amérique et en Europe, ont confirmé que le prélèvement de liquide amniotique au second trimestre de la grossesse, en vue d'une étude des cellules fœtales (amniocytes), était une technique fiable et peu risquée pour la mère et le fœtus. On évalue à environ 3% le nombre de fœtus viables qui présenteraient une anomalie sévère à la naissance. L'impact du diagnostic prénatal commence à être perçu sur la fréquence des anomalies congénitales graves puisque plusieurs d'entre elles sont dépistées dès la fin du premier trimestre.

Si, de par l'anamnèse familiale ou l'histoire obstétricale, la femme est reconnue comme étant à risque de concevoir un enfant atteint d'une anomalie génétique, un diagnostic prénatal peut alors être envisagé. Ce diagnostic peut être réalisé en imagerie médicale avec ou sans prélèvement de liquide amniotique ou autre tissu d'origine fœtale selon la nature de l'anomalie recherchée. Avant de procéder à toute intervention, ou technique invasive, le **sine qua non** est de s'assurer qu'il y a possibilité de dépister ou d'exclure le défaut génétique qui toucherait le sujet atteint. Le diagnostic prénatal permet aux couples à risque d'envisager une grossesse puisqu'une alternative leur est maintenant offerte.

II.4.1) Familles à risque

a) Age maternel avancé

Les femmes âgées de 35 ans et plus à l'accouchement ont un risque plus élevé de donner naissance à un enfant porteur d'une anomalie chromosomique par non disjonction. Ce risque accru serait dû en partie au vieillissement ovulaire. Le risque augmente avec l'âge (fig 1) et touche particulièrement la trisomie 21 (syndrome de Down) qui est la plus fréquente des anomalies autosomiques observées. Plusieurs autres, dont les trisomies 13 et 18, et les anomalies des chromosomes sexuels XXY et XXX sont également diagnostiquées plus fréquemment dans ce groupe d'âge maternel. D'un pays à l'autre les critères de sélection pour une évaluation anténatale est variable et l'amniocentèse est généralement suggérée aux femmes enceintes qui auront 35 ans ou plus à l'accouchement. Selon les disponibilités en matière de médecine préventive l'examen anténatal peut être précédé d'un test de dépistage en particulier pour la trisomie 21 à l'aide de marqueurs sériques maternels (voir marqueurs sériques). Ce test de dépistage peut permettre d'identifier dans une certaine mesure les personnes qui sont plus à risque de porter un enfant trisomique et rassurer celles qui préféreraient ne pas subir d'amniocentèse si ce test de dépistage s'avérait négatif.

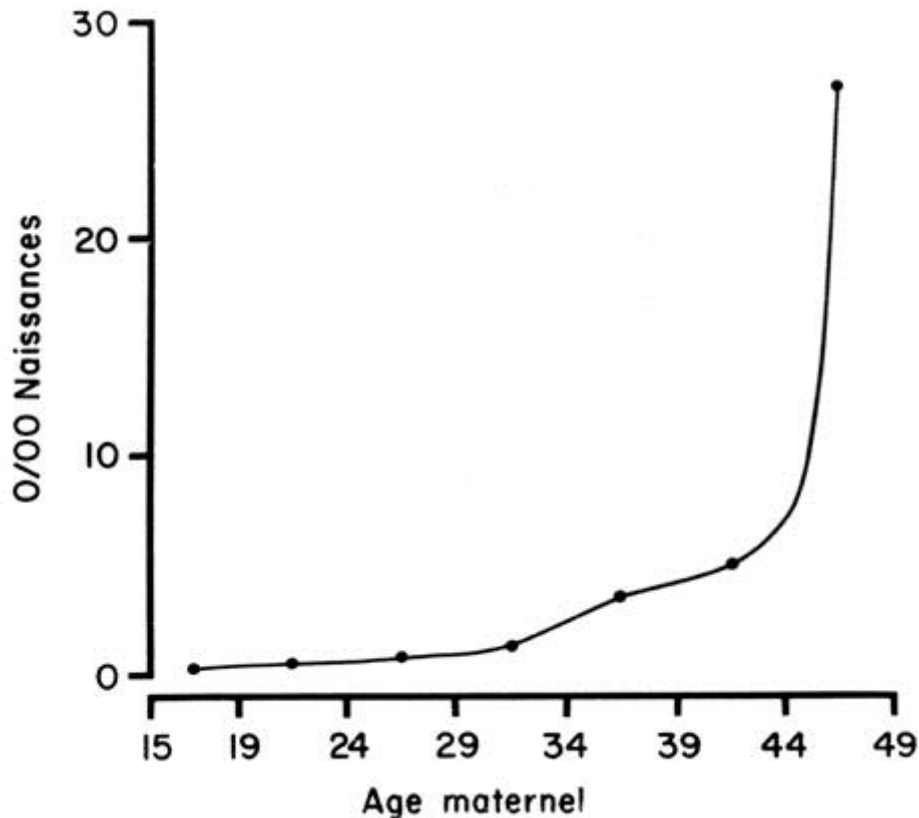


Figure 1 - Incidence de la trisomie 21 à la naissance selon l'âge maternel

b) Récidive des anomalies chromosomiques de nombre et de structure

Tout accident chromosomique résultant d'une erreur de division cellulaire, ou non disjonction, entraîne un risque de récurrence de plus de 1% lors d'une grossesse subséquente et ce risque peut être beaucoup plus élevé qu'attendu chez une femme âgée de 30 ans ou moins. À vingt ans le risque de trisomie 21 est d'environ 1/2000, de 1/1200 à 25 ans, 1/ 900 à 30 ans, 1/300 à 35 ans, 1/100 à 40 ans et 1/40 à 45 ans. Ce risque signifie également que l'aneuploïdie peut toucher d'autres chromosomes que le chromosome surnuméraire. Par exemple une femme qui aurait conçu un fœtus présentant une trisomie 21 pourrait, lors d'une grossesse subséquente, concevoir un enfant qui aurait une trisomie 13 ou 18, ou encore une aneuploïdie impliquant un chromosome X soit un syndrome XXX ou XXY. Il est également possible qu'une trisomie impliquant un autre autosome soit non viable et se termine en fausse couche au tout début de la grossesse.

Translocation chromosomique familiale : un des parents est porteur d'une translocation chromosomique équilibrée et il y a risque, à des pourcentages variables, selon

- 1- le type de translocation,
- 2- l'importance des segments impliqués et
- 3- la ségrégation des chromosomes lors de la méiose,

-de fausse couche spontanée, par déséquilibre majeur du complément chromosomique de donner naissance à un enfant malformé ayant un complément chromosomique non équilibré

-que le fœtus ait un complément chromosomique équilibré, mais tout en étant porteur sain comme un des parents

-que le fœtus ait un caryotype tout à fait normal.

Dès qu'on identifie un remaniement chromosomique chez un individu la règle, dans la mesure du possible, est d'analyser le caryotype des parents et si indiqué de la fratrie, d'abord pour préciser la nature et l'origine du remaniement et par la suite prévenir les individus porteurs, mais sains, du risque de reproduction

On conseille aussi aux couples une analyse de leur caryotype si ils ont une histoire personnelle ou familiale de pertes fœtales à répétition ou de naissance d'enfants avec retard mental avec ou sans dysmorphie.

c) Syndrome du chromosome X fragile et retard mental

-Ce syndrome se caractérise chez l'enfant atteint par un faciès particulier et un retard mental de sévérité variable. Sur le plan chromosomique le signe caractéristique est une hypodensité de la chromatine dans la région Xq28 identifiable en microscopie optique : on parle alors de fragilité du chromosome X. Le défaut génétique a été identifié comme étant une amplification anormale (> 60 fois) du triplet CGG au locus Xq27.3. Si l'enfant est atteint, la mère peut être porteuse (on parle alors de pré-mutation) du syndrome elle-même ayant une amplification anormale du triplet CGG (60-200). L'amplification inhibe l'expression du gène FMR-1. Les individus des deux sexes peuvent être atteints mais les mâles le sont généralement de façon plus sévère. Le syndrome du X fragile est une des causes de retard mental la plus fréquente après le syndrome de Down.

-Dans une histoire familiale de retard mental lié au X, on procédera à une étude moléculaire qui permettra d'identifier les individus atteints du syndrome X fragile et, si indiqué, un diagnostic prénatal pourra être envisagé.

d) Instabilité chromosomique

Certains syndromes, appelés syndromes d'instabilité chromosomique se manifestent par une instabilité de la structure des chromosomes. On parle ici, à titre d'exemple, de maladie de Fanconi caractérisée par une anémie, un retard staturo pondéral, des anomalies squelettiques et du syndrome de Bloom caractérisé par une anémie, un nanisme, une hypersensibilité à la lumière. En effet il s'agit de maladies autosomiques récessives et le risque de récurrence est de 25 % après la naissance d'un enfant atteint. Tous deux ont un taux élevé de cassures chromosomiques et une prédisposition au cancer. Les échanges chromosomiques sont fréquents dans la maladie de Fanconi alors que les échanges entre chromatides sœurs sont plus fréquents dans le syndrome de Bloom. En appliquant les techniques appropriées de mise en culture des cellules fœtales et de coloration des chromosomes, ces syndromes peuvent parfois se prêter à un diagnostic prénatal dans les familles à risque où les parents ont été identifiés comme étant hétérozygotes ou porteurs sains.

Toutefois la démonstration de mutations spécifiques dans ces maladies rares n'est pas toujours réalisable. Si un diagnostic prénatal est envisagé on ne peut compter sur l'étude moléculaire des cellules fœtales que si des mutations parentales ont été mises en évidence au préalable.

e) Maladies métaboliques héréditaires

-Maladie métabolique diagnostiquée chez un enfant et mise en évidence d'un déficit enzymatique ou d'une mutation qui serait décelable par l'étude des cellules fœtales lors d'une grossesse subséquente.

-Maladie métabolique familiale connue: le dépistage chez le couple démontre que les deux parents sont porteurs (hétérozygotes) et ont un risque de 25 % de concevoir un enfant atteint comme dans la mucoviscidose. L'incidence élevée de cette maladie est à l'origine de programmes de dépistage d'individus porteurs d'une mutation, surtout dans les populations à risque.

f) Anomalies du tube neural :

Les anomalies du tube neural sont d'origine multifactorielle et leur incidence est très variable. Elles étaient plus fréquentes dans les îles Britanniques, au Canada, en Chine et d'autres pays comme la Hongrie et atteignaient un taux de 5 pour 1000 naissances avec un risque de récurrence de 5%. Aux États Unis et en France cette fréquence était plutôt de 1 pour 1000 naissances avec un faible risque de récurrence.

Il a été démontré, d'abord en Grande Bretagne, que l'acide folique favorise la fermeture du tube neural et réduit le taux de récurrence dans les grossesses à risque. La prise d'acide folique dès la planification d'une conception et durant les deux premiers mois pour toute grossesse, et en particulier dans les grossesses à risque, a réduit considérablement l'incidence et le risque de récurrence des anomalies du tube neural dont la fermeture se complète dans les 4 premières semaines de l'embryogenèse. Il est donc fortement recommandé, lorsqu'il y a une histoire familiale d'anomalie du tube neural, de procéder à une échographie pour s'assurer de l'intégrité du développement de la voûte crânienne et du rachis. Dans les populations à risque il est très important d'encourager la prise d'acide folique dès que la personne envisage une grossesse ou abandonne tout moyen de contraception.

II.5) Échographie fœtale

L'échographie est une technique qui fait appel aux ultrasons pour examiner les tissus et les organes. L'examen se réalise dès le premier trimestre mais ce n'est qu'au second trimestre que l'on peut évaluer la morphologie fœtale de façon optimale et de préférence vers la 18^{ème} semaine de gestation.

L'échocardiographie fœtale, permettant la visualisation des gros vaisseaux et des chambres cardiaques, est pratiquée de façon optimale vers la 20^{ème} semaine.

Signes d'appel en échographie

Les signes d'appel en échographie sont des variations, notées au cours de l'examen, qui alertent l'examineur à la possibilité d'un développement fœtal anormal ou d'une maladie génétique. Ces signes d'appel peuvent suggérer une anomalie chromosomique telle une trisomie 21, une trisomie 13, une trisomie 18 ou encore une chondrodysplasie.

Malformations fœtales dépistables par échographie au second trimestre de la grossesse

-Malformations du Système nerveux

-Malformations cardiaques

-Malformations thoraciques

-Malformations gastro-intestinales

-Malformations urogénitales

-Malformations musculo-squelettiques

Autres malformations

Brides amniotiques

- Kystes
- Monstre acardiaque
- Jumeaux siamois
- Tératomes
- Tumeurs

II.6 Techniques de prélèvement de tissus fœtaux

II.6.1) L'amniocentèse

L'amniocentèse ou ponction de liquide amniotique est dite précoce si elle est réalisée vers la 12^{ème} semaine de gestation. Bon nombre de cliniques favorisent l'amniocentèse entre la 14^{ème} et 16^{ème} semaine. Des études randomisées ont démontré une incidence élevée de perte de liquide amniotique si le prélèvement est réalisé avant la 12^{ème} semaine et un risque accru de malformations squelettiques en particulier de pieds bots secondaires à l'oligoamnios. On prélève de façon stérile de 10 à 30 ml de liquide selon l'âge de la grossesse. Des cellules fœtales d'origine de la voie digestive haute et du système urinaire, de la peau et des membranes baignent dans ce liquide et sont récupérées par centrifugation du spécimen. Elles sont mises en culture pour une période de 5 à 10 jours en présence de sérum fœtal et d'un milieu nutritif favorisant la croissance cellulaire. La multiplication cellulaire est alors suffisante pour permettre la préparation des lames sur lesquelles on retrouve des cellules au stade de métaphase. La numération des chromosomes au microscope et l'étude de leur structure est alors complétée. Un traitement du matériel cellulaire, lors de la préparation des lames, met en évidence des zones plus ou moins claires correspondant au marquage chromosomique. Ces zones sont le reflet du ratio variable de nucléotides A-T ;G-C sur les chromatides.

Au besoin des analyses enzymatiques ou moléculaires peuvent être prescrites sur ces échantillons cellulaires.

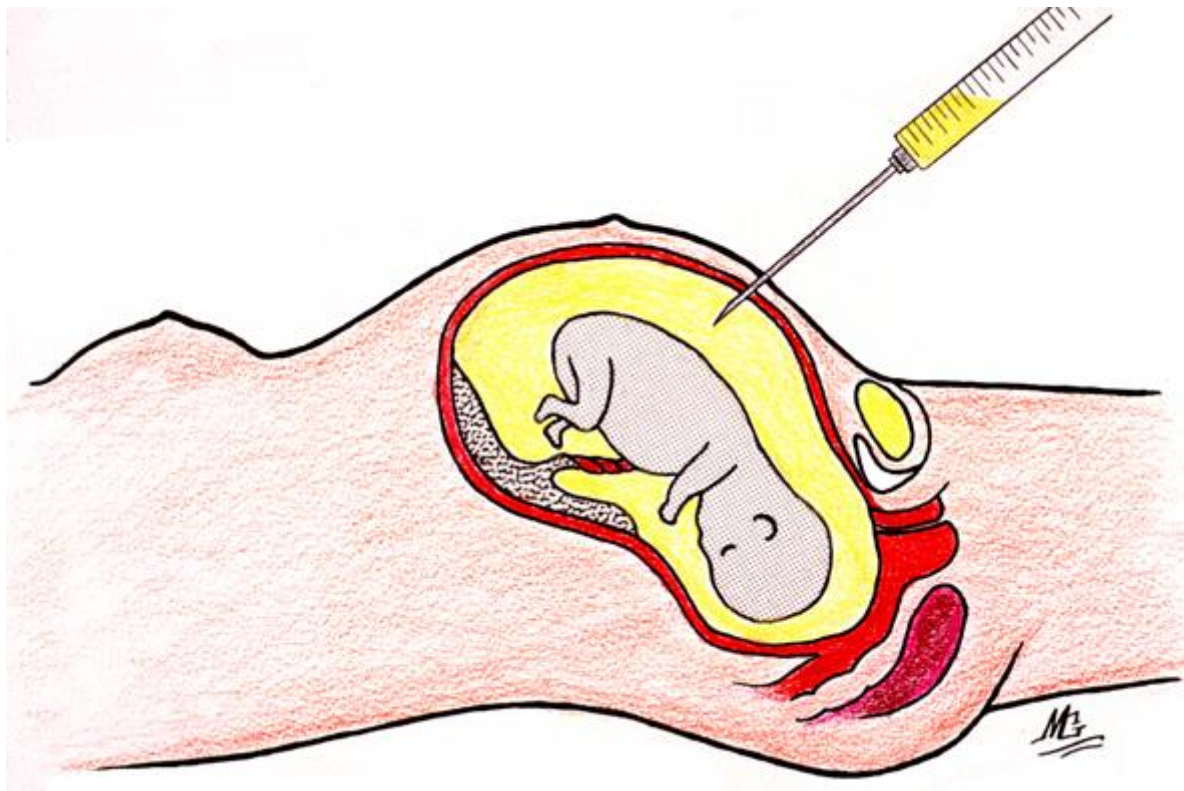


Schéma illustrant la procédure d'amniocentèse

II.6.2) Biopsie choriale ou choriocentèse

Le prélèvement de villosités chorales par voie vaginale donne accès à des cellules fœtales dont plusieurs sont en voie de division et peuvent être analysées dans les heures qui suivent le prélèvement. Un risque plus élevé de pertes fœtales et de contamination du spécimen par des cellules maternelles a convaincu plusieurs cliniciens d'abandonner ce type de prélèvement réalisé avant la 12^{ème} semaine. Quelques rapports ont fait état du risque d'anomalie de réduction des membres si la biopsie est faite vers la fin du premier trimestre. Dans certaines circonstances, pour lesquelles le risque de récurrence est élevé comme par exemple dans les maladies métaboliques héréditaires ou encore si un des parents est porteur d'une translocation chromosomique équilibrée, cette approche permet alors l'obtention d'un résultat en quelques jours vers la 11^{ème} ou 12^{ème} semaine de grossesse.

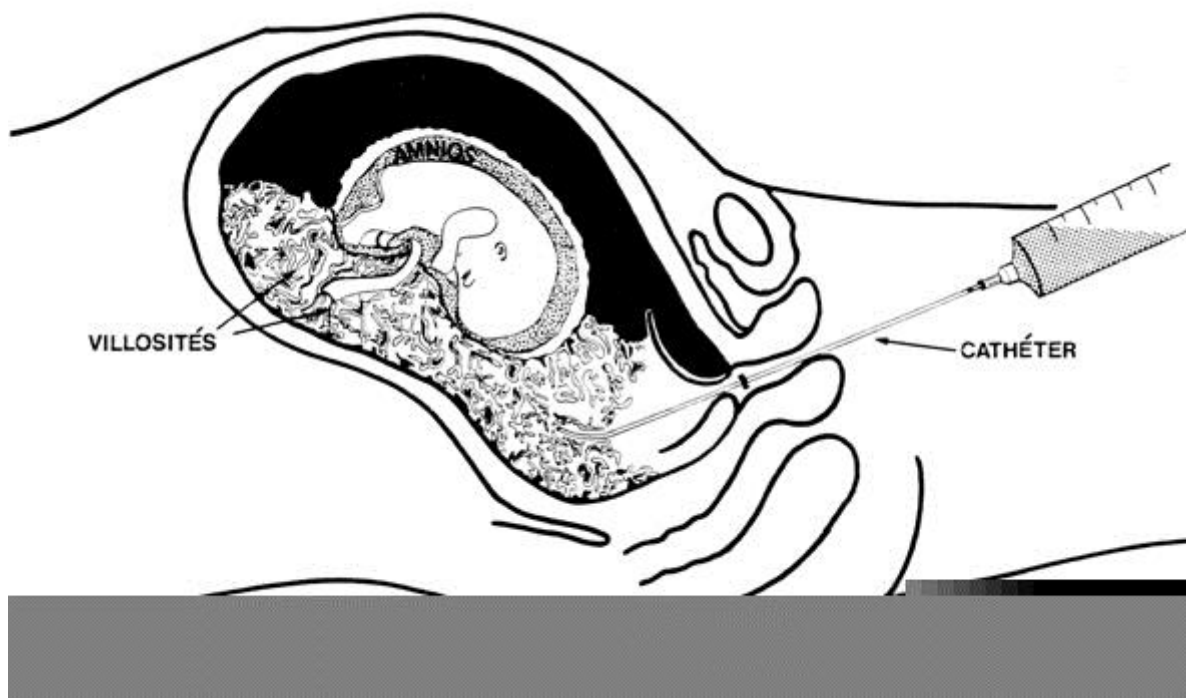


Schéma illustrant la procédure de biopsie choriale

II.6.3) Cordocentèse

On peut prélever du sang du cordon sous guidage échographique. Cette voie d'accès permet une analyse à court terme du complément chromosomique ou métabolique vers la fin du second trimestre lorsqu'il y a urgence de préciser un diagnostic : résultats non concluants des premières analyses, menace d'accouchement. L'analyse cytogénétique rapide, à partir des lymphocytes, permet la confirmation ou l'exclusion d'une anomalie chromosomique suspectée à l'étude des amniocytes. Cette approche peut également être utile pour préciser une mosaïque comme par exemple la trisomie 20 en mosaïque dont le pronostic est généralement favorable ou identifier un marqueur chromosomique qui serait confiné aux annexes. Cette voie a été favorisée pour l'étude de déficits immunitaires sévères entre autres pour la mesure de l'adénosine déaminase et l'examen des cellules T.

II.6.4) Fœtoscopie

La foetoscopie consiste à visualiser le fœtus, de préférence vers la fin du second trimestre, en introduisant dans l'utérus, par voie transabdominale et sous guidage échographique, un tube muni de fibres optiques permettant de pratiquer une biopsie ou d'autres manipulations chirurgicales. Pour des raisons évidentes de sécurité cette technique invasive n'est que rarement utilisée en clinique.

II.6.5) Cellules fœtales en circulation

La présence de cellules fœtales en circulation dans le sang maternel pourrait nous renseigner sur le complément chromosomique ou le génotype du fœtus. Des recherches en ce sens sont en cours depuis plusieurs années et n'ont à date donné que peu de résultats sur l'efficacité de cette technique non invasive de diagnostic prénatal. Les embûches sont multiples soit la rareté des cellules nucléées, leur isolation, leur identification et l'analyse génétique. L'apport du FISH et autres techniques d'identification chromosomique et le PCR pour l'analyse moléculaire ont récemment encouragé les chercheurs à ne pas abandonner cette voie qui pourrait révolutionner l'approche du diagnostic prénatal des maladies génétiques.

II.6.6) Marqueurs sériques maternels

Les marqueurs sériques sont des protéines normales en circulation chez la mère et dont la mesure permet de dépister un certain nombre de pathologies fœtales au début de la grossesse. Ainsi l'efficacité du dépistage est augmentée si les deux approches, échographie fœtale et marqueurs sériques, sont complétées simultanément.

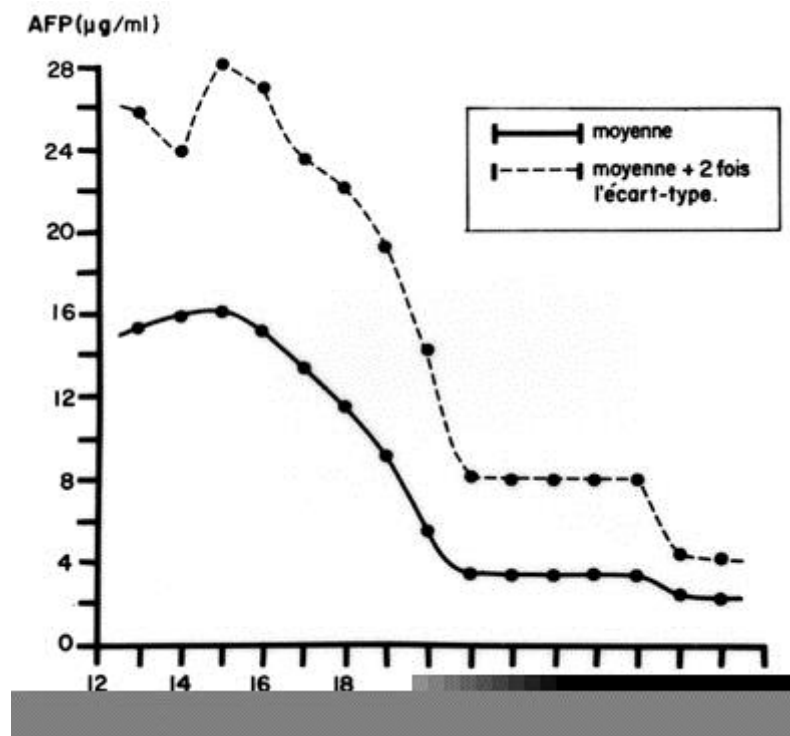


Figure 6 - Valeurs d'AFP dans le liquide amniotique au second trimestre

II.6.7) Hybridation in situ en fluorescence (FISH)

L'hybridation in situ en fluorescence consiste en l'utilisation de sondes moléculaires marquées en fluorescence et correspondant à un gène ou une séquence d'ADN donnant un signal visible au microscope à la lampe UV à un endroit précis d'un chromosome. Le FISH peut s'appliquer dans un premier temps aux cellules fœtales au stade d'interphase dès le prélèvement du liquide amniotique et confirmer la présence d'un complément euploïde ou aneuploïde entre autres pour les chromosomes X, Y, 13, 15, 18, 21. Cette technique s'applique à l'étude de marqueurs chromosomiques qui, si marqués, peuvent être décelés dans les amniocytes. En d'autres circonstances le FISH peut être utilisé pour identifier l'origine de segments supplémentaires ou confirmer la perte de séquences précises ou délétion sur un chromosome donné.

II.6.8) Perspectives d'avenir

a) Diagnostic pré-implantatoire (DPI)

Le diagnostic pré-implantatoire consiste en l'analyse d'une cellule prélevée d'un œuf fécondé qui se trouve par exemple au stade de 8 cellules. Le diagnostic pré-implantatoire a été introduit dans les techniques de procréation assistée en 1989 mais on considère qu'il s'agit d'une manœuvre qui est toujours au stade de recherche et développement et dont on ne connaît pas encore la fiabilité et la sécurité bien qu'à date les quelques douzaines de nouveau-nés, issus de cette pratique, semblent avoir un développement normal. Seulement quelques laboratoires en Europe et en Amérique ont les facilités et le savoir faire pour développer cette technique et l'offrir comme moyen de diagnostic.

b) Le dépistage pré-conceptionnel (DPC)

Le dépistage pré-conceptionnel est une avenue nouvelle dans le domaine de la prévention. Il implique la recherche d'anomalies au niveau des gamètes et de façon plus spécifique au niveau de l'ovule. Des publications récentes font état de diagnostic pré-conceptionnel en utilisant le premier corps polaire d'ovules en voie de maturation : les corps polaires étant l'image du complément chromosomique et du génotype de l'ovule qui pourrait être utilisé pour une fécondation in vitro. Dans un exemple cité dans la littérature une mère étant porteuse d'un gène dominant pour une forme sévère de maladie d'Alzheimer on sélectionna chez elle un ovule normal et indemne de mutation ce qui lui aurait permis de rendre à terme un enfant normal. La voie est donc ouverte aux interventions diagnostiques, qui font appel à l'étude des gamètes, mais des dilemmes éthiques découleront de toute tentative de manipulation des cellules germinales.

III) CONSEIL GENETIQUE

Plus de 6000 maladies héréditaires (géniques) sont connues et 0,7 % des naissances comportent une anomalie chromosomique déséquilibrée. Les fausses couches à répétition ou la stérilité d'un couple peuvent également être dues à une cause génétique. Au total, environ 4 % des sujets nés vivants présentent une anomalie qui relève peu ou prou de la génétique.

III.1) Motifs de demande de conseil génétique

III.1.1) Couple avant procréation

- Avec notion de maladie héréditaire chez l'un ou chez les deux partenaires, ou dans leur famille.
- Couple consanguin.
- Exposition à un possible mutagène physique ou chimique, toxique ou médicamenteux.

III.1.2) Couple constitué

- Bilan d'une stérilité (recherche d'une anomalie chromosomique).
- Fausses couches spontanées à répétition: 15 % des grossesses aboutissent à une fausse couche; mais le caryotype du couple est indiqué en présence de deux (ou plus) fausses couches.
- Exposition à un agent tératogène (rubéole, toxoplasmose...) au cours d'une grossesse.
- Notion d'un enfant atteint dans la fratrie (mort né, décédé après la naissance, vivant malformé, ou chez lequel sont apparues après la naissance des manifestations d'une génopathie).
- Age maternel avancé.
- Révélation plus ou moins tardive d'une affection dégénérative dans le couple.

III.2) Consultation de conseil génétique

III.2.1) Climat d'anxiété.

- Climat d'anxiété.
 - Sentiment d'engager l'avenir.
 - Interrogatoire délicat sur les "tares familiales" avec parfois accusations de la belle-famille.
 - Secrets (adultères, incestes) conduisant parfois à des renseignements erronés.
- La consultation devra établir une étude minutieuse de l'arbre généalogique et un diagnostic précis de l'affection afin d'en déterminer le mode de transmission et les retentissements.

III.2.2) Arbre généalogique

L'arbre généalogique: doit être complet, inclure les sujets décédés et les grossesses interrompues, les causes de décès.

III.2.3) Diagnostic de l'affection

- Les sujets atteints doivent être examinés soigneusement, les examens biologiques nécessaires pratiqués.

- Les sujets hétérozygotes sains doivent être dépistés si cela est possible, les hétérozygotes obligatoires notés.
 - Un fœtus ou un nouveau-né décédé doit être soigneusement examiné: compte-rendu morphologique et photographies, radiographies du squelette, prélèvements biologiques avec, entre autres, caryotype sur sang intracardiaque ou fibroblastes, autopsie minutieuse avec l'accord des parents.
- > Un diagnostic précis de l'affection doit être obtenu car des maladies cliniquement très proches peuvent avoir des modes de transmission différents.

III.2.4) Le conseil

Il se fera en fonction:

- Du risque encouru (mode de transmission, pénétrance et expressivité, coefficient de parenté, fréquence du gène dans la population).
- De la gravité de l'affection et de l'existence ou non d'un traitement.
- En tenant compte de la composition de la famille (sujets déjà atteints, nombre d'enfants normaux).
- Pour une affection grave, à risque de récurrence élevé, sans traitement efficace et sans diagnostic prénatal (ou devant le refus des parents de le pratiquer), il sera conseillé aux parents de ne plus avoir d'enfants [mais les progrès récents sont tels dans le domaine de la génétique, que le couple doit rester en contact avec le généticien].

Le conseil génétique

- Demande du temps et de la disponibilité (voir éventuellement les partenaires séparément si l'on suspecte des renseignements erronés, des secrets cachés).
- Beaucoup de psychologie
- Une bonne connaissance des maladies génétiques.

III.2.5) Evaluation du risque

-Caractère autosomique dominant

-Caractère autosomique récessif

-Caractère récessif lié à l'X

-Caractère multifactoriel

-Anomalies chromosomiques

-Consanguinité

Elle augmente la probabilité d'affection autosomique récessive ou multi-factorielle.

Calculer le coefficient de parenté.

Risque important en cas de maladie familiale connue.

-Exposition aux agents mutagènes

□ Risque faible mais un diagnostic prénatal doit être proposé souvent pour rassurer les parents si l'un ou l'autre a subi un traitement anticancéreux dans les mois qui ont précédé la fécondation.

Un diagnostic prénatal doit être proposé, lorsqu'en existe la possibilité, pour des naissances ultérieures, dans chacun des cas de figure exposés.

III.2.6) Rôle des unités de génétique

Le rôle des unités de génétique à l'égard des cliniques spécialisées est d'assurer la coordination de l'enseignement et la prise en charge des malades et des familles. L'unité de génétique est souvent responsable des analyses diagnostiques dans le cadre de ces investigations et doit s'assurer que l'information pertinente est transmise à tous les individus concernés.

III.2.7) Corollaires au conseil génétique

a) Traitement

Le conseil génétique doit également offrir aux individus et familles des informations et avis sur le traitement des maladies génétiques soit en leur offrant une prise en charge ou encore en les orientant vers d'autres cliniques spécialisées telles la diététique, l'orthophonie, la physiothérapie et autres qui sont aptes à recevoir ces patients.

b) Suivi des patients

Le conseil génétique ne se limite pas à une session d'information et on doit souvent prévoir un contact ou une rencontre ultérieure pour vérifier la compréhension des informations transmises, la mise à jour du dossier et très souvent informer les individus concernés de la mise au point de nouveaux examens de laboratoire ou d'ajouts aux protocoles de traitement

c) Suivi des familles

Le diagnostic et le conseil doivent être complétés par le suivi des familles. Il est fréquent pour les cliniques de génétique d'assurer le suivi de plusieurs membres d'une famille particulièrement dans les translocations chromosomiques familiales, les maladies monogéniques autosomiques dominantes ou liées au chromosome X comme l'hémophilie.

d) Dossiers et fichier des patients

La confidentialité des informations nominatives doit évidemment être respectée selon les normes établies. Des formulaires de consentement adaptés aux situations cliniques sont consignés aux dossiers. On recommande aux patients d'aviser la clinique de génétique d'une nouvelle adresse postale surtout si un contact ultérieur est souhaitable.

e) Divulgence des résultats

Il est fréquent dans le cadre des investigations familiales qu'un ou des individus acceptent de subir l'examen mais refusent d'être informés des résultats : une situation des plus fréquentes dans les épreuves de susceptibilité ou encore dans le dépistage de maladies dégénératives pour lesquelles il n'existe aucun traitement. Toute information concernant le risque de reproduction doit évidemment être donnée aux personnes concernées.

f) Programmes de dépistage

-Nouveau-né

Toute forme de dépistage de maladies génétiques soit pour identifier les malades ou les porteurs sains doit s'accompagner à la fois d'un consentement éclairé et d'un conseil génétique applicable aux circonstances. Ainsi un dépistage systématique de maladie métabolique chez le nouveau-né aura un suivi si le test de dépistage est anormal ou demande un contrôle.

-Enfant ou adulte

Tout dépistage réalisé dans le cadre de l'évaluation d'une population à risque doit se munir d'un plan de conseil génétique qui doit prévoir une information de base pour l'ensemble de la population visée et d'une approche individuelle et confidentielle dans l'éventualité de résultats positifs. Le dépistage des hémoglobinopathies dans les pays méditerranéens ou de la maladie de Tay Sachs chez les juifs Ashkénases sont des exemples de populations qui se prêtent à un dépistage systématique de par l'incidence élevée de certaines maladies héréditaires.