

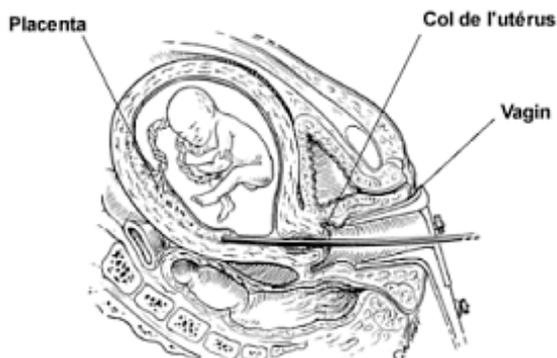
## **Diagnostic Prénatal des maladies génétiques sans risque de fausse-couche La fin du cauchemar pour les femmes est désormais à portée de main..... à condition de vouloir se battre**

### **Le problème**

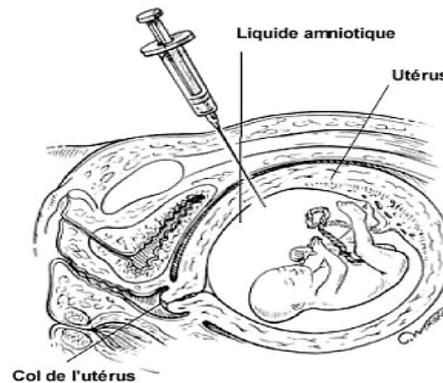
Le développement d'une méthode fiable et sans risque de fausse-couche pour le diagnostic anténatal des maladies génétiques est à la fois un enjeu médical, sociétal et économique majeur du 21<sup>e</sup> siècle.

Actuellement, les femmes enceintes peuvent savoir, de façon fiable, si leur enfant a une maladie génétique uniquement ayant recours à une méthode « invasive », c'est à dire une méthode semi-chirurgicale qui permet de prélever des cellules du fœtus par amniocentèse ou biopsie des villosités chorionales. Globalement, ces méthodes sont associées à un risque de fausse-couche de 1-2%.

### **Biopsie des villosités chorionales (BVC)**



### **Amniocentèse**



**L'exemple de la Trisomie 21.** Le taux de prévalence de naissance d'un enfant trisomique augmente avec l'âge de la mère : 1 sur 2000 environ à 20 ans, 1 sur 200 à 38 ans. Jusqu'à récemment, on proposait une amniocentèse pour caryotype aux femmes enceintes d'âge supérieur ou égal à 38 ans : 2/3 des naissances d'enfants trisomiques survenaient alors chez les femmes de moins de 35 ans. La Haute Autorité de Santé a récemment recommandé, chez toutes les femmes enceintes, un dépistage combiné du 1<sup>er</sup> trimestre de grossesse, associant la mesure de la clarté nucale par échographie obstétricale et le dosage des marqueurs sériques du 1<sup>er</sup> trimestre. Toutefois, la sensibilité de ces tests de dépistage est d'environ 80% pour 5% de faux positifs. Cette stratégie a donc eu des effets néfastes:

- un taux excessif d'amniocentèses (taux national : 11%, équivalent à 88.000)
- une augmentation des **fausses-couches iatrogènes (environ 900 fœtus sains perdus par an !)**
- une source accrue d'anxiété maternelle et médicale
- une morbidité maternelle accrue liée à l'interruption médicale de grossesse (IMG)
- le diagnostic manqué de 20% des fœtus trisomiques par défaut de sensibilité de la stratégie décrite

## La solution par l'avancement de la recherche

Il y a environ 40 ans, il est apparu que des rarissimes cellules fœtales franchissent la barrière placentaire et circulent dans le sang maternel. Ces cellules contiennent le génome fœtal et pourraient permettre de dépister les maladies génétiques.

Dans la pratique, toutefois, plusieurs problèmes techniques s'opposaient à ces études :

- les cellules fœtales circulantes sont rarissimes, de l'ordre de une mélangée à 10 millions de globules blancs et 5 milliards de globules rouges par millilitre de sang,
- elles sont de quatre types différents : lymphoïdes, myeloïdes, érythroïdes et **épithéliales (dites « trophoblastiques »)** et seulement les érythroïdes et les trophoblastiques constituent la bonne cible pour le diagnostic prénatal car elles ne persistent pas dans le sang après l'accouchement
- ces cellules fœtales rarissimes doivent être isolées sans être mélangées à aucune cellule maternelle, car le génome de la mère peut fausser l'analyse génétique réalisée sur le génome des cellules fœtales.

A la fin du siècle dernier le scepticisme était la règle dans ce domaine. « Les cellules fœtales circulantes ? c'est le monstre de Loch Ness : tout le monde en parle, personne les a vues » entendait-on dans les congrès de génétique médicale.

Le prestigieux *National Institute of Child Health* américain avait financé à la hauteur de plusieurs dizaines de millions de dollars une étude multicentrique (9 centres académiques) quinquennale pour valider une nouvelle méthode de Diagnostic Prénatal Non Invasif, c'est-à-dire sans risque de fausse-couche : un effort à la hauteur du défi. Les résultats furent publiés à la fin de 2002 dans la revue *Prenatal Diagnosis* ; 1292 femmes enceintes d'un fœtus masculin avaient été testées : au moins une cellule fœtale avait été identifiée dans seulement 41% de ces mères avec un taux de faux positifs de détection de sexe fœtal de 11%. Le travail montra la faillite de la méthode américaine et induit plusieurs équipes à délaisser le sujet, considéré comme « impossible ».

En France, sur le campus « Necker-Enfants Malades », nous travaillions depuis 1995 à la détection de rarissimes cellules épithéliales tumorales circulantes et cherchions en 1998 à mettre au point une approche efficace pour les isoler intactes du sang des patients avec cancer. L'enjeu de cette nouvelle méthode était la possibilité de prévoir la survenue de métastases pour essayer ainsi de « sauver » le patient. A la fin de 1999 la nouvelle méthode, appelée ISET pour *Isolation by Size of Epithelial Tumor cells*, était au point. L'article scientifique sera publié par la revue *American Journal of Pathology* en 2000. En 2001, il devient clair que le système ISET peut isoler du sang d'autres cellules rarissimes : les cellules fœtales **épithéliales (trophoblastiques)** circulantes. Nous avons très vite réalisé que la sensibilité de ISET est extraordinaire, arrivant à isoler parfaitement les cellules trophoblastiques rarissimes ! Travaillant d'arrache-pied, nous publions en 2002 dans la revue *American Journal of Pathology* un travail qui décrit la stratégie moléculaire pour réaliser le Diagnostic Prénatal non invasif, valable à la fois pour les fœtus de sexe masculin et féminin, alors que nos concurrents américains avaient ciblé uniquement, pour réduire les difficultés, les fœtus masculins.

La méthode ISET comprend quatre étapes :

- isolement des cellules trophoblastiques par ISET à partir du sang ;
- extraction des cellules suspectes d'être fœtales, une par une, à l'aide du microscope équipé de laser (Nikon) ;
- analyse du génome des cellules isolées (génotypage) pour identifier de façon sûre les cellules trophoblastiques ;
- recherche de la mutation (diagnostic génétique) dans l'ADN des cellules trophoblastiques = **diagnostic prénatal sur simple prise de sang.**

Il fallait ensuite mettre au point la méthode moléculaire pour chaque maladie génétique à diagnostiquer de façon invasive.

En 2003, en collaboration avec les équipes des Professeurs Munnich et Dumez, nous avons publié dans la revue *The Lancet* l'approche ISET pour le diagnostic prénatal de l'Amyotrophie Spinale (SMA) et son application en aveugle à 12 couples à risque d'avoir un enfant atteint: la méthode s'est révélée aussi fiable que celle invasive (biopsie des villosités choriales, BVC). Nous avons ainsi brûlé toutes les étapes dans la compétition internationale.

En 2005 nous avons initié une étude de validation clinique prospective de phase III pour cette méthode. L'ouverture de l'aveugle a eu lieu en novembre 2007 et a montré que la méthode ISET est aussi fiable que la méthode invasive : la validation été terminée avec succès.

En 2006, nous avons mis au point et publié la méthode ISET pour le DPN non invasif de la Mucoviscidose. Son application en aveugle à 12 mères à risque a montré que les résultats de l'ISET sont aussi fiables que ceux de la méthodes invasive (BVC). En 2006 nous avons initié une étude de validation clinique prospective de phase III pour cette méthode. L'ouverture de l'aveugle (janvier 2009) a montré que la méthode ISET est aussi fiable que la méthode invasive : la validation a été terminée avec succès.

En 2005, nous avons mis au point l'approche ISET pour le DPN non invasif de la Trisomie 21. Nous avons besoin de financements (600 K€) pour terminer la validation technique et réaliser la validation clinique

Nous avons déposé en mars 2006 la demande de financement à l'ANR (Agence Nationale pour la Recherche) en partenariat avec la compagnie Metagenex (*start up* fondée en 2001 pour financer le développement et la validation des tests ISET). En septembre nous avons reçu l'heureuse nouvelle que l'ANR finançait le projet (600 K€). Entretemps, toutefois, en juillet 2006, la compagnie Metagenex avait changé de manager et le nouveau, qui a levé 2.7 millions d'euros, a refusé de signer le contrat avec l'ANR (faisant perdre 200 K€ à la compagnie) et a bloqué les projets ISET. L'aide financière de Metagenex à notre Unité pour la location du microscope à laser a été supprimée et le personnel dédié à ces méthodes pointues a été affecté à d'autres tâches. Nos projets étaient bloqués.

Notre combat nous a permis de valider les méthodes pour la SMA et la Mucoviscidose, mais les études coûteuses pour la Trisomie 21 ont été malheureusement lourdement entravées.

### **Le présent**

Les méthodes validées sont pour l'instant inutilisées. Il faudrait organiser le transfert de ces méthodes aux laboratoires de génétique médicale et des validations plus larges avec bénéfice direct des mamans. Les brevets, donnés en licence exclusive à Metagenex par les propriétaires INSERM (INSERM Transfert), Université Paris Descartes et AP-HP, ne sont pas valorisés.

La méthode pour la Trisomie 21 attend dans un tiroir que des compagnies américaines ou asiatiques développent et valident cliniquement des approches alternatives et compétitives : un gâchis des avancées françaises obtenues avec l'argent public et un affront aux espoirs des familles.

### **L'avenir**

Ce projet, conduit et défendu pour les femmes, qui transmettent et protègent la vie, ne doit pas avorter. Nous demandons de l'aide pour le sauver et porter à terme.