

IV - Photodermatoses - *Photodermatoses*

Apport de l'étude de l'excision-réparation de l'ADN au diagnostic des génophotodermatoses

F. VASSEUR*, P. THOMAS **, B. CAULIER**, J.B. SAVARY*, M. DEMINATTI*

* Laboratoire de cytogénétique
 ** Service de dermatologie B
 CHU de Lille - 59037 Lille Cedex

Excision-repair study contribution to the diagnosis of genophotodermatoses

Excision-repair has been studied on leukocytes by UV-induced unscheduled DNA synthesis (UDS). 47 patients have been investigated. Nine cases (BB, BBA, YH, HB, BBN, SN, BL, OHM, OHA) are clinically affected with the classic form of Xeroderma pigmentosum (XPc). One case (MH) is suspected of XPc, with intense photosensitivity and photophobia. Two cases are diagnosed as xerodermoid (DN, DC) owing to the weakness of symptomatology, and two others (VML, DY) are typical xerodermoid. One case (PP) is identified as Bloom's syndrome. Cases of Rothmund Thomson's syndrome (GE, YF, HP, BG), Pibids (SzC), Cockayne's syndrome (FL), hydroa-vacciniform (AA), and sclerolytosis (VC) have also been investigated (Table I). Parents (11 cases), sibship (11 cases), and children (2 cases) of affected cases (Table III, Fig. 1) have been screened. UDS is performed according to an adaptation of Burck's protocol with leukocytes and of Cleaver's with fibroblasts. After quantitative autoradiography, average count grains per cell is chosen as label value. Residual excision repair activity expressed in percentage versus a normal control patient is: patient label value/control label value x 100.

Reliability of UDS on leukocytes for the quantification of excision repair is based upon our results from 9 clinically evident XPc (Table I).

One patient (MH) suspected as XPc, has been biologically confirmed with a 20% residual excision-repair activity for 0,6 mJ/cm². Two patients (DN, DC), initially recognized as xerodermoid, have excision-repair defect (16%, 18%); they are finally diagnosed XPc. Presumed Bloom's syndrome (PP) is finally identified as XPc, with residual excision-repair of 23% at 0,6 mJ/cm². Two patients (VML, DY) with xerodermoid have no defect excision-repair, owing to post replication repair defect identified by Cleaver (5). In families with XPc cases, every unaffected sib is investigated too. Four of these (BBMi, BM, YR, PA) are early diagnosed as XPc (respectively 36, 17, 52 and 25% residual excision-repair activity for 0,6 mJ/cm²). Prenatal diagnosis is performed for two pregnancies of patient SN affected with XPc, in both cases excision-repair studied on cultivated amnion cells, was normal. The children, 6 and 1 years old, are clinically unaffected.

Excision-repair studied in the case of parents, obligate carriers for XPc revealed a slight defect: 81% and 91% for DP and DMC (0,6 mJ/cm²). In families P and B (Fig. 1) high rates of UV up to 2 mJ/cm² reveal abnormal excision-repair profiles (Tableau VI). These results allowed carrier detection of XPc in family M. Patient MA, clinically unaffected and presenting a repair profile similar to XPc obligate carriers, is identified as a carrier. No repair defect has been noticed for cases of Cockayne, hydroa-vacciniform and sclerolytosis.

Only one of the 4 cases of Rothmund Thomson's syndrome presents a DNA repair defect (57% residual activity). Pibids' syndrome (SzC) reveals a 11% residual repair activity (15) as previously described in accordance with the high photosensitivity and photophobia observed (13, 14). Relationship with XPc is especially linked to XPc complementation groupe D (16).

Mots-clés :

Excision-réparation
 Xeroderma pigmentosum
 Photocarcinogénèse
 Génophotodermatose

Key words :

Excision-repair
 Xeroderma pigmentosum
 Photocarcinogenesis
 Genophotodermatosis

Les organismes subissent de la part de l'environnement un certain nombre d'agressions, en particulier l'action du rayonnement ultraviolet. La cible majeure est la molécule d'ADN. Il en résulte diverses lésions, essentiellement la formation de dimères de pyrimidine (6).

Plusieurs mécanismes biologiques ont pour rôle de restaurer l'intégrité du message génétique en éliminant les lésions de l'ADN : la photoréactivation mise en évidence par Kellner (7) chez *Escherichia coli* et chez l'homme par Sutherland (11), l'excision-réparation, décrite chez *Escherichia coli* par Boyce et Howards Flanders (2), et dont le déficit chez l'homme a été associé par Cleaver (4) au Xeroderma pigmentosum (XP), la réparation postréplicative (9) dont l'anomalie est responsable de la forme xerodermoïde du Xeroderma pigmentosum (XP variant). Parallèlement à ces mécanismes de réparation fidèle du message génétique ("error free"), il existe un système de réparation d'urgence mais cette fois mutagène ("error prone") : la réparation S.O.S. (S.O.S. repair) dont le concept fut avancé par Radman (10) chez les procaryotes et par Bockstahler et Lytle (1) chez les eucaryotes.

À côté des porphyries et des troubles congénitaux du métabolisme du tryptophane, on retrouve un certain nombre de génodermatoses associées à une photosensibilité : les génophotodermatoses (12). Elles sont liées à une déficience reconnue ou non encore identifiée du système de réparation des lésions photoinduites de l'ADN, à l'origine de réactions phototoxiques précoces et répétées pouvant se compliquer de cancers cutanés multiples.

La mise en évidence d'un déficit de l'excision-réparation sur les lymphocytes ne nécessitant qu'un prélèvement sanguin est un élément clé du diagnostic des formes atypiques, du diagnostic précoce chez l'enfant (permettant l'application des mesures de protection) et du diagnostic anténatal dans les formes graves qui peuvent justifier une interruption de grossesse.

Malades et méthodes

I- Les malades

L'étude de l'excision-réparation porte sur 47 sujets, âgés de 18 semaines de grossesse à 66 ans, dont 22 de sexe masculin et 25 de sexe féminin (Tableau I, Fig. 1), dont les prélèvements proviennent des services de dermatologie ou de pédiatrie de Lille, Montpellier, Limoges, Toulouse, Rouen, Brest, Marseille et Tours. Les diagnostics suspectés (4 cas) ou affirmés (19 cas) cliniquement des 23 cas probants se répartissent ainsi (Tableau II) :

- 9 cas (BB, BBA, YH, HB, BBN, SN, BL, OHM, OHA) sont atteints de la forme classique de Xeroderma pigmentosum (XPc);
- 1 cas n'est qu'une suspicion sur l'association d'une photosensibilité intense et d'une photophobie (MH);
- 2 cas évoquent la forme xerodermoïde du xeroderma pigmentosum (DN et DC) devant la discrétion des symptômes cliniques;
- 2 autres cas (DY, VML) sont rattachés cliniquement à cette forme (8);
- 1 cas (PP) est étiqueté suspicion de syndrome de Bloom;
- les 4 cas de Rothmund Thomson (GE, YF, HP, BG) sont facilement identifiés cliniquement;

Diagnostic clinique	Age	Sexe		% d'excision-réparation à :			
		Masculin	Féminin	0,2	0,6	1	2 mJ/cm ²
Xeroderma pigmentosum							
BB	5 ans	+			49		
BBA	12 ans	+			25		
YH	4 ans	+			48		
HB	6 ans	+			27		
MH (suspicion)	4 ans		+	20	20	20	#0
BBN	4 ans		+		28		
SN	22 ans		+		25		
BL	20 ans		+		25		
OHM	13 ans	+			50	41	
OHA	12 ans		+		36	29	
Xeroderma pigmentosum variant							
DN	15 ans		+		18		
DC	19 ans		+		16		
DY	66 ans		+		100		
VML	65 ans		+		100		
Syndrome de Bloom							
PP suspecté	3 ans		+	33	23	23	23
Syndrome de Rothmund Thomson							
GE	2 ans	+			100		
YF	54 ans	+			100		
HP	16 ans	+			57		
BG	3 ans	+			100		
Syndrome de Cockayne							
FL	10 ans		+		100		
Hydroa vacciniforme							
AA	10 ans	+			100		
Sclérotolyosis							
VC	40 ans	+			100		
Pibids							
SzC	7 ans		+		12		

Tableau I: Malades et résultats
Patients and results

Diagnostic clinique	suspecté	confirmé	nombre de cas
Xeroderma pigmentosum	MH	OHM, OHA, BBA, YH HB, BBN, SN, BL, BB	10
Xerodermoïde	DN, DC	DY, VML	4
Syndrome de Rothmund Thomson	-	GE, YF, HP, BG	4
Pibids	-	SzC	1
Syndrome de Bloom	PP	-	1
Syndrome de Cockayne	-	FL	1
Hydroa-vacciniforme	-	AA	1
Sclérotolyosis	-	VC	1
TOTAL	4	19	23

Tableau II: Cas proposant
Propositi

Diagnostic clinique du cas proposant	collatéraux	Parents de sujets explorés		Nombre de cas
		ascendants	descendants	
Xeroderma pigmentosum	BBS, BBD, BBD _j BBH, BBMi, BBR YR, BM, MA	BBM, BBAy YM, YN, BMou	SA, SL	14
Xerodermoïde		DP, DMC		2
Pibibs	SzS	SzF, SzP		3
Syndrome de Bloom	PA	PJ, PM		3
Nombre de cas	11	11	2	24

Tableau III : Famille des cas proposant
Families of propositio

Malade	Diagnostic initial	% excision réparation suite à une irradiation UV de 0,6 mJ/cm ²	Diagnostic final	
			Confirmé	Rectifié
BB	XPc	49	XPc	
BBA	XPc	25	XPc	
YH	XPc	48	XPc	
HB	XPc	27	XPc	
BBN	XPc	28	XPc	
SN	XPc	25	XPc	
BL	XPc	25	XPc	
OHM	XPc	50	XPc	
OHA	XPc	36	XPc	
DN	Xer	18		XPc
DC	Xer	16		XPc
DY	Xer	100		
VML	Xer	100	Xer	
PP	Bloom	23	Xer	
MH	photosensibilité photophobie	20		XPc XPc

XPc: forme classique du Xeroderma pigmentosum; Xer: forme xérodermoïde du Xeroderma pigmentosum

Tableau IV : Diagnostics confirmés ou rectifiés
Confirmed or modified diagnosis

Collatéraux de XPc	% d'excision-réparation après irradiation UV à la dose de :				% d'excision-réparation du ou des cas index à la dose de 0,6 mJ/cm ²
	0,2 mJ/cm ²	0,6 mJ/cm ²	1 mJ/cm ²	2 mJ/cm ²	
BBS BBD BBD _j BBH BBMi BBR		100 100 100 100 36 100			25 (BBA) 28 (BBN)
MA BM PA YR	100 29	55 17 25 52	31 40 25	31 38 25	20 (MH) 49 (BB) 23 (PP) 48 (YH)

Tableau V : Diagnostic précoce de Xeroderma pigmentosum
Early diagnosis of Xeroderma pigmentosum

Hétérozygote XP obligatoire	Hétérozygote XP suspecté	XP% d'excision-réparation après une irradiation UV de				% excision-réparation du ou des cas index à 0,6 mJ/cm ²
		0,2 mJ/cm ²	0,6 mJ/cm ²	1 mJ/cm ²	2 mJ/cm ²	
DP DMC			81 91			16 (DN) 18 (DC)
PJ PM		100 100	100 80	100 80	51 66	23 (PP) 25 (PA)
BMou	MA	100	98 55	65 31	53 31	49 (BB) 20 (MH)

Tableau VI : Dépistage des hétérozygotes
Xeroderma pigmentosum carriers detection

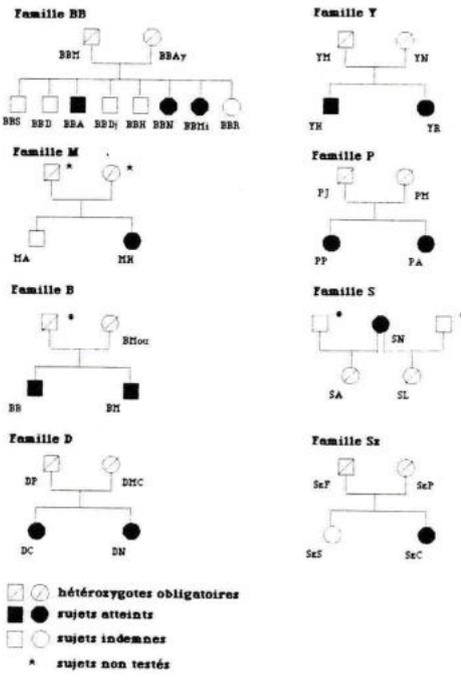


Figure 1: Familles de Xeroderma pigmentosum étudiées
Xeroderma pigmentosum families studied

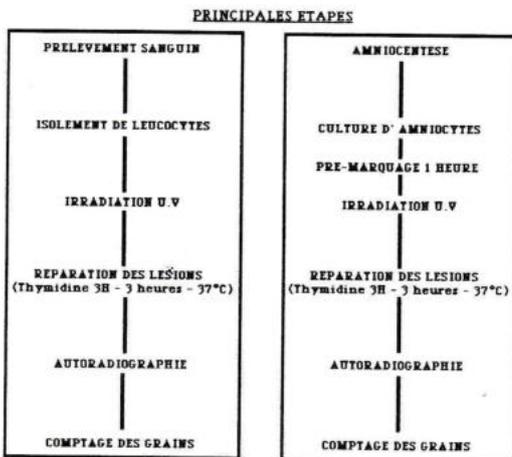


Figure 2: Principales étapes de l'étude de l'excision-réparation
Summarized excision-repair protocol

- les cas de Pibids (SzC), de Cockayne (FL), d'hydroa vaccini-forme (AA) et de sclérotosylis (VC) sont authentifiés.
- Les collatéraux (11 cas) ascendants (11 cas), et descendants (2 cas) des sujets proposant se répartissent ainsi (Tableau III) :
- les sujets MA, BB (S, D, Dj, H, Mi et R), YR, BM sont cliniquement indemnes de Xeroderma pigmentosum mais ont un ou plusieurs frères et/ou soeurs atteints de Xeroderma pigmentosum ;
- SzS est la soeur de la petite SzC atteinte de Pibids et PA la soeur de PP étiquetée syndrome de Bloom ;
- les sujets BB (M et Ay), Y (M et N), D (P et MC), B Mou sont les parents d'enfants atteints de Xeroderma pigmentosum ou de forme xérodermoïde ;
- Sz (F et P) sont les parents de SzC (Pibids) et P (J et M) les parents de PP (Bloom) ;
- deux grossesses de pères différents chez une des filles atteinte de Xeroderma pigmentosum sévère (SN) ont justifié l'étude de l'excision-réparation sur culture de fibroblastes, recueillis par amniocentèse à la 18^e semaine (SA et SL).

II- Les méthodes

1- Etude de l'excision-réparation (Fig. 2)

a) Méthode d'étude sur leucocytes

Nous utilisons une adaptation de la méthode de Burck et coll. (3). A partir d'un prélèvement veineux hépariné, les leucocytes sont isolés sur dextran hépariné (NaCl 0,9%, héparine 1%, Dextran Clin[®](1) de Macrodex 50%), puis lavés en milieu 199 supplémenté à 1% de sérum de veau foetal. Les cellules isolées sont ensuite irradiées en UV à 254 nm au moyen d'une lampe germicide de 6 W (Bioblock) à des doses de 0,2, 0,6, 1 et 2 mJ/cm² mesurée au radiomètre VLX 254 (Bioblock).

Les leucocytes irradiés sont incubés pendant trois heures à 37°C en présence de 3 µCi/ml de thymidine tritiée (83 Cimmoles, de Amersham), lavés en milieu 199 sans adjonction de sérum, fixés au mélange méthanol-acide acétique (3:1), puis déposés sur lames histologiques.

Les lames sont trempées une seconde dans l'émulsion liquide Kodak NTB 2 (Eastman Kodak), séchées à l'air puis stockées, un mois minimum, en boîtes étanches à la lumière, à 4°C. Les lames sont ensuite développées dans les conditions préconisées par le fabricant.

b) Méthode d'étude sur fibroblastes

Les fibroblastes sont prélevés par ponction amniotique à la 18^e semaine. Nous appliquons le protocole de Cleaver (4). Les cultures sont préincubées une heure à 37°C en présence de 3 µCi/ml de thymidine tritiée en milieu 199 additionné de 1% de sérum de veau foetal, afin de marquer les cellules en phase S (prémarquage d'identification). Le protocole est ensuite identique à celui utilisé sur les leucocytes.

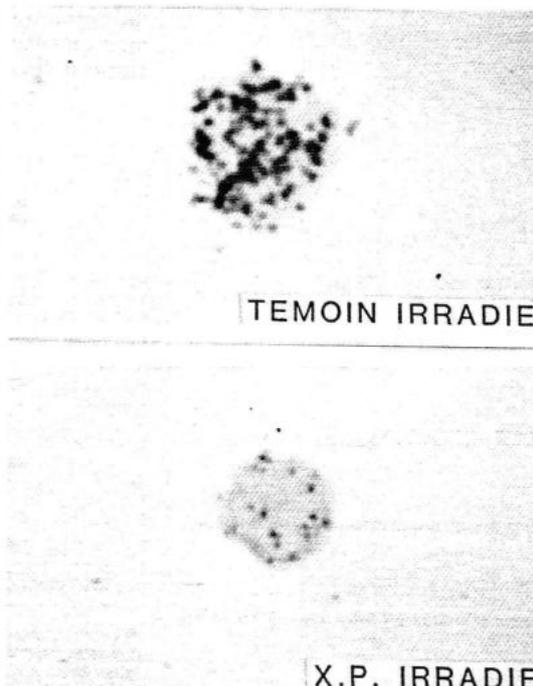


Figure 3: Autoradiographie de lymphocytes irradiés et non irradiés du témoin et du patient atteint de Xeroderma pigmentosum. Incorporation de ³H thymidine pendant 3 heures à 37°C (irradiation à 254 nm à la dose de 0,6 mJ/cm²)

a) témoin non irradié, b) témoin irradié, c) Xeroderma pigmentosum non irradié, d) Xeroderma pigmentosum irradié.

Autoradiography of unirradiated and irradiated lymphocytes from normal control and Xeroderma Pigmentosum patient after ³H thymidine incorporation at 37°C (UV irradiation dose at 254 nm is 0,6 mJ/cm²)

a) unirradiated normal control, b) irradiated normal control, c) unirradiated Xeroderma pigmentosum, d) irradiated Xeroderma pigmentosum patient.

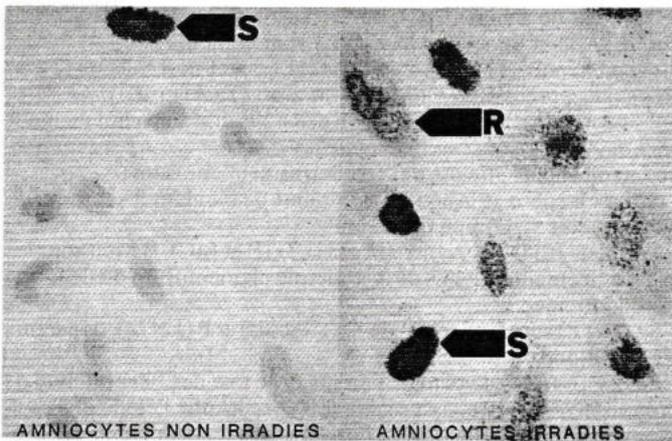


Figure 4 : Autoradiographie d'amniocytes en culture. Les cellules en phase S apparaissent fortement marquées (S) avec ou sans irradiation (prémarquage d'identification à la ³H thymidine pendant 1h à 37°C).

Après irradiation UV à 254 nm à la dose de 0,6 mJ/cm² et incorporation de ³H thymidine pendant 3h à 37°C, les cellules en cours de réparation (R) sont marquées proportionnellement à leur capacité de réparation

- a) amniocytes non irradiés
- b) amniocytes irradiés

Autoradiography of cultivated amnion cells. Cells in S phase are heavily labelled (S) with or without irradiation (identification prelabelling with ³H thymidine, 1 hour at 37°C).

Following 254 nm UV irradiation (0,6 mJ/cm²), ³H thymidine incorporation (3 h, 37°C), repair cells (R) are labelled in relation with their repair capacity

- a) unirradiated amnion cells
- b) irradiated amnion cells.

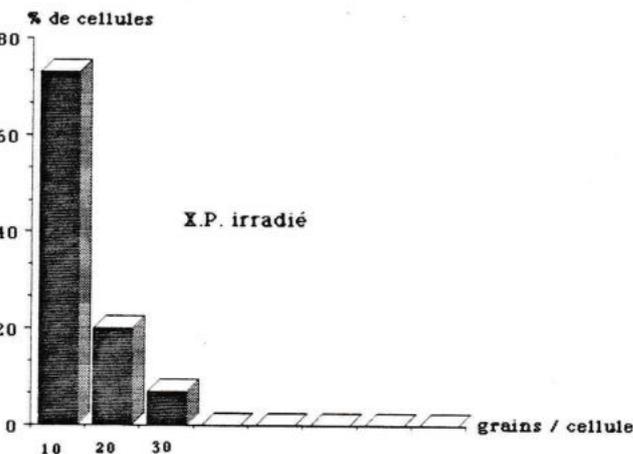
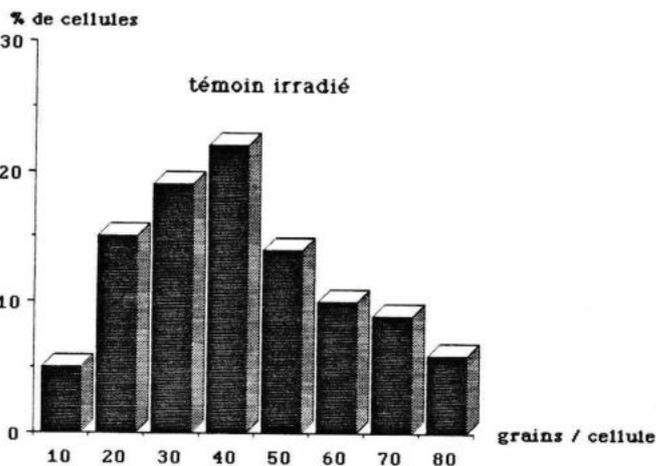


Figure 5 : Histogrammes présentant la répartition des cellules en fonction de leur marquage pour une irradiation à 254 nm de 0,6 mJ/cm²

- a) témoin, moyenne à 47 grains/cellule
- b) patient atteint de Xeroderma pigmentosum, moyenne à 17 grains/cellule.

L'activité résiduelle du patient est de 36%
Histograms showing the repartition of the cells according to their label. Irradiation is 0,6 mJ/cm² at 254 nm

- a) Normal control, average : 47 grains/cell
- b) Xeroderma pigmentosum patient, average : 17 grains/cell.

Residual repair capacity is 36% for the patient

2- Expression des résultats

a) Calcul de l'activité résiduelle

Toutes les manipulations sont effectuées en parallèle avec un sang témoin qui sert de référence 100%. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'activité résiduelle par rapport à l'activité mesurée chez le témoin.

La mesure de l'activité d'excision-réparation s'effectue par comptage des frais d'autoradiographie sur 50 à 100 cellules photographiées au hasard pour chaque dose d'irradiation (Fig. 3, 4). Pour chaque dose la répartition du marquage est exprimée par un histogramme : pourcentage de cellules vs nombre de grains par cellule. La répartition est très étalée, entre 10 et 80 grains par cellule pour l'exemple témoin (Fig. 5a). Dans le cas de Xeroderma pigmentosum présenté (Fig. 5b), la répartition est regroupée autour des faibles marquages (de 10 à 30 grains par cellule).

Le taux d'activité résiduelle s'exprime ainsi : valeur moyenne de marquage du patient/valeur moyenne du marquage du témoin x 100.

Dans l'exemple présenté (Fig. 5), la valeur moyenne du témoin est de 47 grains/cellule, celle du patient de 17 grains/cellule : l'activité résiduelle est : (17:47)x100, soit 36%.

b) Variation de l'activité en fonction du temps ou de la dose

L'excision-réparation évaluée pour une même dose en fonction de la durée d'incubation (Fig. 6) et pour des doses croissantes pour une même durée d'incubation (Fig. 7) montre une différence significative entre la courbe du témoin et celle du patient atteint de Xeroderma pigmentosum.

Résultats

I- Xeroderma pigmentosum

1- Cas des sujets étiquetés cliniquement Xeroderma pigmentosum (XPc) (Tableau I)

Les neuf malades (BB, BBA, YH, HB, BBN, SN, BL, OHM, OHA), dont le diagnostic est évident, présentent tous un déficit net de l'activité résiduelle d'excision-réparation avec des valeurs s'échelonnant entre 25 et 50% à la dose de 0,6 mJ/cm².

Chez la malade MH, âgée de 4 ans, dont le diagnostic de XPc avait été évoqué devant une photosensibilité associée à une photophobie, la mise en évidence d'une activité résiduelle à 20% pour les doses de 0,2, 0,6 et 1 mJ/cm² nous permet de la rattacher au cadre du XPc (Tableaux I, IV).

2- Cas de sujets dont le diagnostic a été rectifié (Tableau IV)

Deux cas étiquetés xérodermoïdes (famille D, sujets N et C) présentent en fait un déficit important avec des taux d'activité résiduelle respectivement de 16% et 18%. Ce déficit net permet de les rattacher au cadre classique du Xeroderma pigmentosum (XPc).

Un enfant d'origine française (PP) étiqueté syndrome de Bloom, exploré sur le plan de l'excision-réparation, révèle un déficit net (23%) pour une dose de 0,6 mJ/cm² (Fig. 1, famille P, tableaux I, IV) qui permet de proposer le diagnostic de Xeroderma pigmentosum pour cet enfant. Parallèlement, l'étude du nombre des échanges de chromatides soeurs (SCE) qui s'avère comparable au sujet témoin

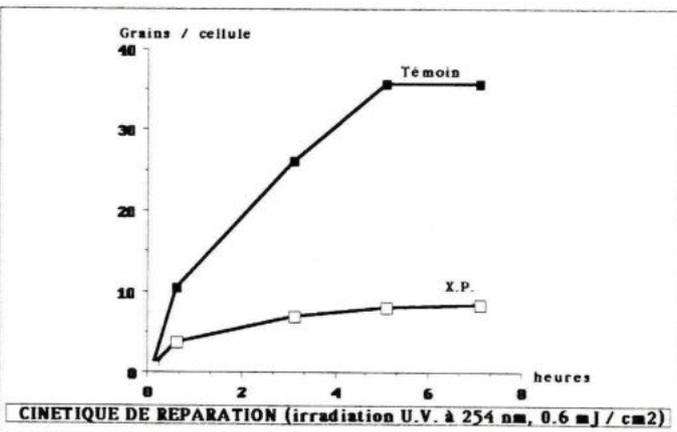


Figure 6 : Cinétique de réparation en fonction de la durée d'incubation en présence de ³H thymidine (pour une dose de 0,6 mJ/cm²)
Repair kinetic according to the duration of 37°C incubation with ³H thymidine. Irradiation is 0,6 mJ/cm²

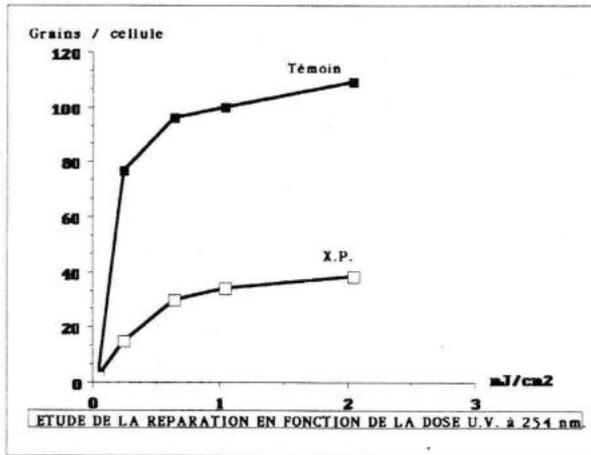


Figure 7: Variation de la réparation en fonction de la dose pour une incubation de 3 heures en présence de ^3H thymidine
Variation of repair according to the dose. Incubation with ^3H thymidine is 3 hours

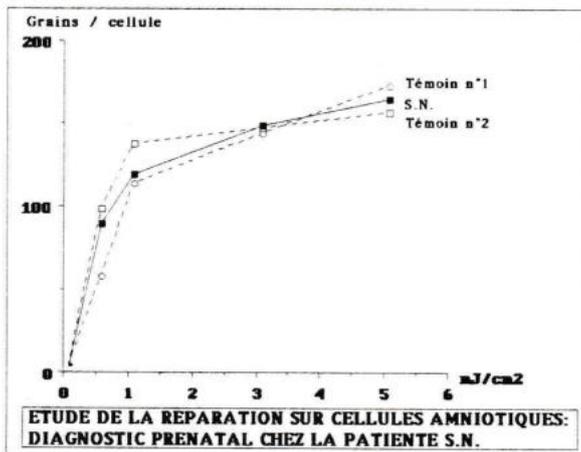


Figure 8: Etude de l'excision-réparation sur cellules amniotiques prélevées à la 18^e semaine chez le patient SN. Aucune différence significative n'est décelée entre l'activité excision-réparation des cellules amniotiques de ce patient et deux cultures de cellules amniotiques témoins du même âge gestationnel
Analysis of excision-repair on amnion cells from patient SN (18th week of pregnancy). No significant difference is noticed between excision-repair capacity of amnion cells from the patient, and two controls of cultivated amnion cells at the same term of pregnancy.

permet d'écarter formellement le diagnostic initial de syndrome de Bloom. Le diagnostic de Xeroderma pigmentosum débutant est donc retenu à l'âge de 3 ans. Le cas de l'enfant MH présentant une photosensibilité intense et une photophobie a été exposé plus haut.

3- Cas des confirmations indirectes

Les deux autres patients, atteints cliniquement d'une forme xérodermoïde (VML et DY) ont un taux de réparation normal, ce qui est compatible avec le diagnostic, puisque dans cette affection le déficit se situe au niveau de la réparation post-réplivative et n'est donc pas décelable par notre technique (Tableaux I, IV).

4- Cas de collatéraux de Xeroderma pigmentosum

Dans les familles où un ou plusieurs enfants présentent des signes cliniques de XPc, confirmés par la mise en évidence d'un déficit de l'excision-réparation, tous les enfants ont bénéficié d'une étude de l'excision-réparation.

Chez quatre enfants cliniquement indemnes (BBMi, BM, YR et PA), le diagnostic précoce de XPc a été posé avant l'apparition des manifestations cliniques devant les déficits de l'excision-réparation respectivement de 36, 17, 52 et 25 % à la dose de 0,6 mJ/cm² (Tableau V).

5- Cas des descendants de Xeroderma pigmentosum

La gravité de l'affection justifiant une interruption de grossesse lorsque le fœtus s'avère atteint, le diagnostic prénatal de Xeroderma pigmentosum est effectué pour deux grossesses chez la malade SN, atteint de XPc (déficit d'excision-réparation de 25 %) (Tableau I). Sur

les fibroblastes mis en culture à partir d'une amniocentèse faite à la 18^e semaine de gestation, dans les deux cas, le taux d'excision-réparation était normal (Fig. 8) et les grossesses ont pu être menées à terme. Les enfants SA, SL (Fig. 1) sont nés indemnes cliniquement et le sont toujours après six ans de recul pour le premier et un an de recul pour le deuxième.

6- Cas des hétérozygotes XPc

L'étude de l'excision-réparation, chez les parents d'enfants (famille D, Fig. 1, Tableau VI) atteints de XPc a montré un léger déficit (81 % et 91 %) en excision-réparation pour des doses de 0,6 mJ/cm².

Dans les familles P et B (Fig. 1), nous avons utilisé des doses d'irradiation croissantes (0,2, 0,6, 1 et 2 mJ/cm²) qui révèlent des profils anormaux d'excision-réparation (51 % à 2 mJ/cm² pour le sujet PJ; 80 % à 0,6 et 1 mJ/cm², 66 % à 2 mJ/cm² pour le sujet PM; 65 % à 1 mJ/cm², 53 % à 2 mJ/cm² pour le sujet BMou) (Tableau VI).

Ceci nous a permis de réaliser un test de dépistage des hétérozygotes dans la famille M (Fig. 1). Le sujet indemne MA présente un profil d'excision-réparation anormal (55 % à 0,6 mJ/cm², 31 % à 1 et 2 mJ/cm²) (Tableau VI) qui, comparé au profil des hétérozygotes obligatoires des familles B et P, permet d'identifier le sujet MA comme hétérozygote du XPc.

II- Les autres génophotodermatoses

Parallèlement aux cas de Xeroderma pigmentosum, d'autres génophotodermatoses ont été explorées. La suspicion de syndrome de Bloom (PP), présentée plus haut dans les diagnostics rectifiés, s'est avérée, sur les valeurs du taux d'excision-réparation, être un authentique XPc (Tableau IV).

Le syndrome de Cockayne (FL), l'hydroa vacciniforme (AA), le cas de sclérotolyse (VC) ne s'accompagnent d'aucun déficit de l'excision-réparation (Tableau I).

Parmi les quatre patients présentant un syndrome de Rothmund-Thomson (Tableau I), un seul (HP) présente un déficit avec un taux d'activité résiduelle de 57 % pour une dose de 0,6 mJ/cm².

Notre observation (SzC) de Pibids (13, 14) associant une photosensibilité intense dès les premiers mois, un nanisme harmonieux, une cataracte d'apparition tardive, un retard mental et une ichtyose, une trichothiodystrophie (TTD), présente un déficit net (11 %) de l'excision-réparation (15) sur leucocytes (Tableau I), résultat confirmé sur fibroblastes qui permet de la rattacher au groupe de complément D (16).

Discussion

La synthèse d'ADN non programmée, suite à une irradiation UV (UV induced unscheduled DNA synthesis), c'est-à-dire l'incorporation d'un précurseur marqué dans les zones d'ADN en cours de réparation, offre une méthode fiable d'étude directe de l'excision-réparation. L'incorporation du précurseur (thymidine tritiée) étant, pour une dose d'irradiation et un temps de réparation donnés, proportionnelle à la capacité de réparation des cellules, il est possible de quantifier l'activité d'excision-réparation. Contrairement aux études présentées dans la littérature, où les fibroblastes provenant de biopsies cutanées, sont utilisées, nous avons étudié l'excision-réparation sur leucocytes obtenus à partir d'un prélèvement de sang veineux. Cette facilité de prélèvement rend plus accessible le test d'excision-réparation. Par ailleurs, les mitoses de cellules sanguines étant très rares, il n'y a pas ou peu d'interférence avec l'incorporation du précurseur radioactif par des cellules en cours de réplification, contrairement à la technique sur fibroblastes. En revanche, l'utilisation d'une phase liquide pour l'irradiation du leucocyte introduit un facteur d'inhomogénéité de l'irradiation, l'épaisseur du film liquide étant plus importante en périphérie qu'au centre. Ceci explique le caractère étalé de la répartition des cellules en fonction du marquage (Fig. 5), ce qui n'est pas le cas avec la culture des fibroblastes. C'est un justificatif supplémentaire au choix de la valeur moyenne du nombre de grains par cellule pour quantifier l'activité d'excision-réparation.

La validité de la méthode et son application aux cellules sanguines n'est plus à démontrer, puisque sur un total de 9 patients cliniquement atteints de XPc, tous ont présenté un déficit significatif de l'excision-réparation. L'application du test chez des collatéraux de XPc, cliniquement indemnes, permet d'éliminer le diagnostic de XPc ou de poser un diagnostic biologique précoce. Dans notre étude, 4 enfants indemnes des manifestations cliniques de la maladie ont

présenté un déficit de l'excision-réparation comparable à celui des cas index familiaux. Un suivi médical et une photoprotection adéquate ont été mis en place pour limiter l'évolution de la maladie avant que celle-ci ne soit décelable cliniquement.

La gravité de l'affection justifiant une interruption thérapeutique de grossesse lorsque le fœtus est atteint, nous a conduit à effectuer le diagnostic prénatal à deux reprises chez une patiente cliniquement atteinte de Xeroderma pigmentosum sévère. Dans les deux cas, les fœtus, bien qu'hétérozygotes obligatoires ont présenté sur fibroblastes des valeurs d'excision-réparation tout à fait comparables à celles des témoins.

L'excision-réparation des hétérozygotes XPc évaluée sur culture de fibroblastes ne présente pas de différence significative par rapport aux témoins (5). Il ressort de notre expérience que l'étude sur leucocytes apparaît plus sensible, puisque de faibles différences à 0,6 mJ/cm² entre des sujets hétérozygotes obligatoires (DP, DMC) et le sujet normal deviennent significatives pour des doses d'irradiation croissantes jusqu'à 2 mJ/cm² (sujets PJ, PM, BMou). Ces résultats permettent un dépistage des hétérozygotes sur la base d'un profil anormal d'excision-réparation sur leucocytes, comme il est présenté pour le patient MA. Nous pensons que de fortes doses d'irradiation saturant les mécanismes de réparation affaiblis des sujets hétérozygotes. De telles doses d'UVC ne se rencontrant pas dans la nature rendent compte du caractère asymptomatique des hétérozygotes. En dehors du Xeroderma pigmentosum, le déficit en excision-réparation rencontré chez un seul patient (HP) atteint de syndrome de Rothmund-Thomson sur les quatre cas étudiés, ne permet pas de conclure quant à l'existence d'un déficit associé à cette pathologie et une étude complémentaire est justifiée. ■

(1) *Dextran Clin*[®] : dextran 70 000 et chlorure de sodium, commercialisé par les laboratoires Clin Midy (Groupe Sanofi) - 32-34, rue Marboeuf - 75008 Paris

Les auteurs tiennent à remercier les services de dermatologie des CHR de Lille (Pr Bergoend), Limoges (Pr Bonnetblanc), Montpellier (Pr Meynadier), Toulouse (Pr Bazex), Rouen (Pr Lauret), Brest (Pr Guillet), Marseille (Pr Bonérandi), Tours (Pr Carli Basset), les services de pédiatrie des CHR de Lille (Pr Farriaux) et Rouen (Pr Mallet), de leur avoir confié l'étude de leurs patients. Ils tiennent également à remercier Melle M.N. Sturque et M. J.P. Tietard pour leur précieuse collaboration technique.

REFERENCES :

- 1- Bockstahler L.E., Lytle C.D. Radiation enhanced reactivation of nuclear replication mammalian viruses. Photochem. Photobiol., 25, 477-482, 1977.
- 2- Boyce R.B., Howard-Flanders P. Release of ultraviolet light induced thymidine dimers from DNA in E. coli K 12. Proc. Natl. Acad. Sc. USA, 51, 293-300, 1964.
- 3- Burck P.G., Lutzner M.A., Clarke D.D., Robbin J.H. Stimulated thymidine incorporation in Xeroderma pigmentosum lymphocytes. Lab. Clin. Med., 77, 759-767, 1971.
- 4- Cleaver J.E. Defective repair replication of DNA in Xeroderma pigmentosum. Nature, 218, 652-656, 1968.
- 5- Cleaver J.E. Xeroderma pigmentosum. In: the metabolic basis of inherited diseases. Stanbury Wyngaarde Friedrickson, Goldstein, Brown Eds. Mc Graw Hill Book Company, 5th Edition, 1227-1248, 1983.
- 6- Hélène C., Charlier M. Réactions photochimiques et photoréactivité du DNA. Biochimie, 60, 1110-1121, 1978.
- 7- Kellner A. Photoreactivation of ultraviolet irradiated Escherichia coli with special reference to the dose reduction principle and of ultraviolet induced mutation. J. Bact., 58, 511-522, 1949.
- 8- Olliel V., Guillot B., Sciola J.P., Guilhou J., Meynadier J. Xeroderma pigmentosum type variant. Ann. Dermatol. Venerol., 113, 143-146, 1986.
- 9- Park S.D., Cleaver J.E. Post-replication repair: question of its definition and possible alteration in Xeroderma pigmentosum cells strains. Proc. Natl. Acad. Sc. Usa, 76, 3927-3931, 1979.
- 10- Radman M. S.O.S. repair hypothesis: phenomenology of an inducible DNA repair which is accompanied by mutagenesis. In: molecular mechanisms for the repair of DNA (Hanawalt P.C., Setlow R.B. Eds). Plenum Press. New-York and London, 355-367, 1975.
- 11- Sutherland B.M. Photoreactivating enzyme from human leukocytes. Nature, 248, 109-112, 1974.
- 12- Thomas P., Amblard P. Génophotodermatoses. In: photodermatologie et photothérapie. Masson Edit., 60-64, 1987.
- 13- Van Neste D., Samaille B., Thomas P., Desmons F. Trichoschisis, photosensibilité, retard staturonpondéral. Nouveau syndrome congénital ou association fortuite? Réunion de la filiale nord-est de la Société française de dermatologie, Lille, 1979.
- 14- Van Neste D., Bore P., Thomas P., Lachapelle J.M. Trichoschisis light sensitivity and growth retardation. XVI congressus internationalis dermatologicae, Tokyo, University of Tokyo Press, 79, 1982.
- 15- Van Neste D., Caulier B., Thomas P., Vasseur F. Pibids: Tay's syndrome and Xeroderma pigmentosum. J. Am. Acad. Dermatol., 12, 372-373, 1985.
- 16- Van Neste D.J., Antoine J.L., Vasseur F., Thomas P. Tay's syndrome and Xeroderma pigmentosum. 17e congrès mondial de dermatologie, Berlin 24-29 mai 1987. Abstract Edit. Orfanos Gollinick Stadler, 1, 223, 1987.