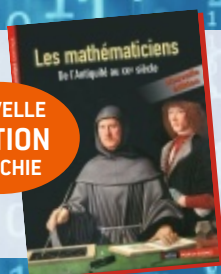


■ POUR LA

La librairie SCIENCE

Le savoir scientifique au fil des pages...

NOUVELLE
ÉDITION
ENRICHIE



Les mathématiciens ■ Collectif

« Nul ne peut être mathématicien s'il n'a une âme de poète », disait Sophie Kowalevskaia. D'Archimède à Jacques Hadamard, cet ouvrage dresse les portraits d'une vingtaine de mathématiciens, autant artistes que scientifiques.

280 pages • 24 euros • ISBN 978-2-8424-5109-7



À contre-idées ■ Didier Nordon

Trouver du comique dans une idée sérieuse (et inversement), du local dans une idée générale (et inversement), de l'absurde dans une idée sensée (et inversement)... Au fil de ses billets d'humeur, Didier Nordon s'ingénie à bousculer les idées reçues.

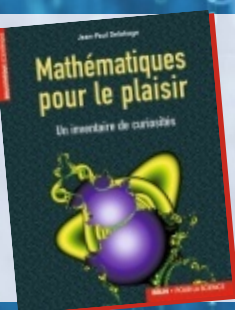
224 pages • 19 euros • ISBN 978-2-8424-5110-3



Au nom de l'infini ■ Jean-Michel Kantor, Loren Graham

Les auteurs retracent un épisode fascinant et dramatique de la création mathématique. Sur les traces de chercheurs russes et français du XX^e siècle, ils nous éclairent sur les liens étroits entre science, religion et politique.

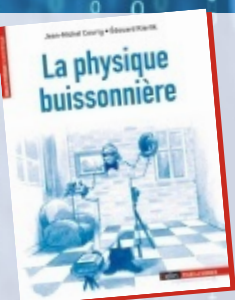
288 pages • 24 euros • ISBN 978-2-8424-5107-3



Mathématiques pour le plaisir ■ Jean-Paul Delahaye

Les mathématiques ne se réduisent pas – heureusement – à ce qu'on nous en apprend à l'école. Partout présentes, elles sont une source de joie et d'épanouissement pour celui qui sait y consacrer un peu d'attention et d'esprit ludique. Dans cet ouvrage, découvrez pourquoi les mathématiques sont faciles et comment s'y adonner est un plaisir.

208 pages • 25 euros • ISBN 978-2-8424-5104-2



La physique buissonnière ■ Jean-Michel Courty, Édouard Kierlik

Une plante plus rapide qu'une mouche, un tuyau qui parle, une cape qui rend invisible, etc. La nature est pleine de surprises pour qui veut bien s'aventurer hors des sentiers battus. Passionnés de physique, les auteurs vous invitent à une promenade sur des chemins de traverse pour comprendre cette physique du quotidien.

160 pages • 22 euros • ISBN 978-2-8424-5105-9

Des livres à découvrir en librairie et sur www.pourlascience.fr

Comment l'ADN réagit sous le soleil

Thierry Douki, Jean-Luc Ravanat, Dimitra Markovitsi et Évelyne Sage

Les rayons ultraviolets solaires provoquent des cancers de la peau, en modifiant l'ADN des cellules de ce tissu. Les mécanismes photochimiques en cause se précisent.

L'ESSENTIEL

✓ Les ultraviolets solaires provoquent des lésions de l'ADN qui peuvent conduire à des mutations.

✓ Jusqu'à présent, on pensait que les ultraviolets B étaient les plus délétères, car ils déclenchent des réactions chimiques entre les bases de l'ADN.

✓ Toutefois, bien qu'ils soient moins absorbés par l'ADN, les ultraviolets A produisent des lésions semblables.

✓ L'identification de ces dommages ou « photoproduits » dans l'ADN permet aux scientifiques de mieux comprendre l'apparition des mutations et des cancers de la peau.

L'exposition au soleil pour avoir une peau hâlée – le bronzage – est une pratique datant du début du XX^e siècle en Europe. Jusqu'au XIX^e siècle, le teint pâle était une preuve d'appartenance à l'aristocratie, alors que la classe ouvrière et paysanne, exerçant son activité en plein air, avait le teint hâlé. Puis la révolution industrielle cantonna les ouvriers dans les usines, loin du soleil, tandis que les classes sociales aisées redécouvraient le tourisme balnéaire. En 1936, avec l'apparition des congés payés, la peau hâlée devint un phénomène de mode.

On découvrit ainsi les méfaits du soleil lors d'une exposition prolongée et les dangers des coups de soleil. Car les rayons ultraviolets du Soleil provoquent des cancers de la peau. On changea la formulation des crèmes solaires – dont les premières apparurent dans les années 1920 – pour qu'elles deviennent des filtres anti-ultraviolets B efficaces, car on pensait que seule cette partie du spectre solaire était délétère pour la peau. Mais par quels mécanismes ?

Dès les années 1960, les chimistes ont étudié les effets des rayons ultraviolets sur l'ADN, support de l'information génétique, des cellules de peau ; ils ont découvert que les ultraviolets B créent des liaisons entre

certains atomes de la molécule ADN, alors que les ultraviolets A agissent indirectement en altérant divers constituants des cellules de peau. L'effet des ultraviolets A était surtout associé au vieillissement cutané. Les ultraviolets B, bien que moins importants dans le rayonnement solaire qui atteint la peau (nous y reviendrons), semblaient donc plus dangereux.

Toutefois, depuis la fin des années 1990, on sait qu'on ne peut plus négliger l'impact des ultraviolets A : non seulement ils représentent une grande partie du spectre solaire atteignant la peau, mais ils peuvent provoquer des tumeurs chez les animaux de laboratoire.

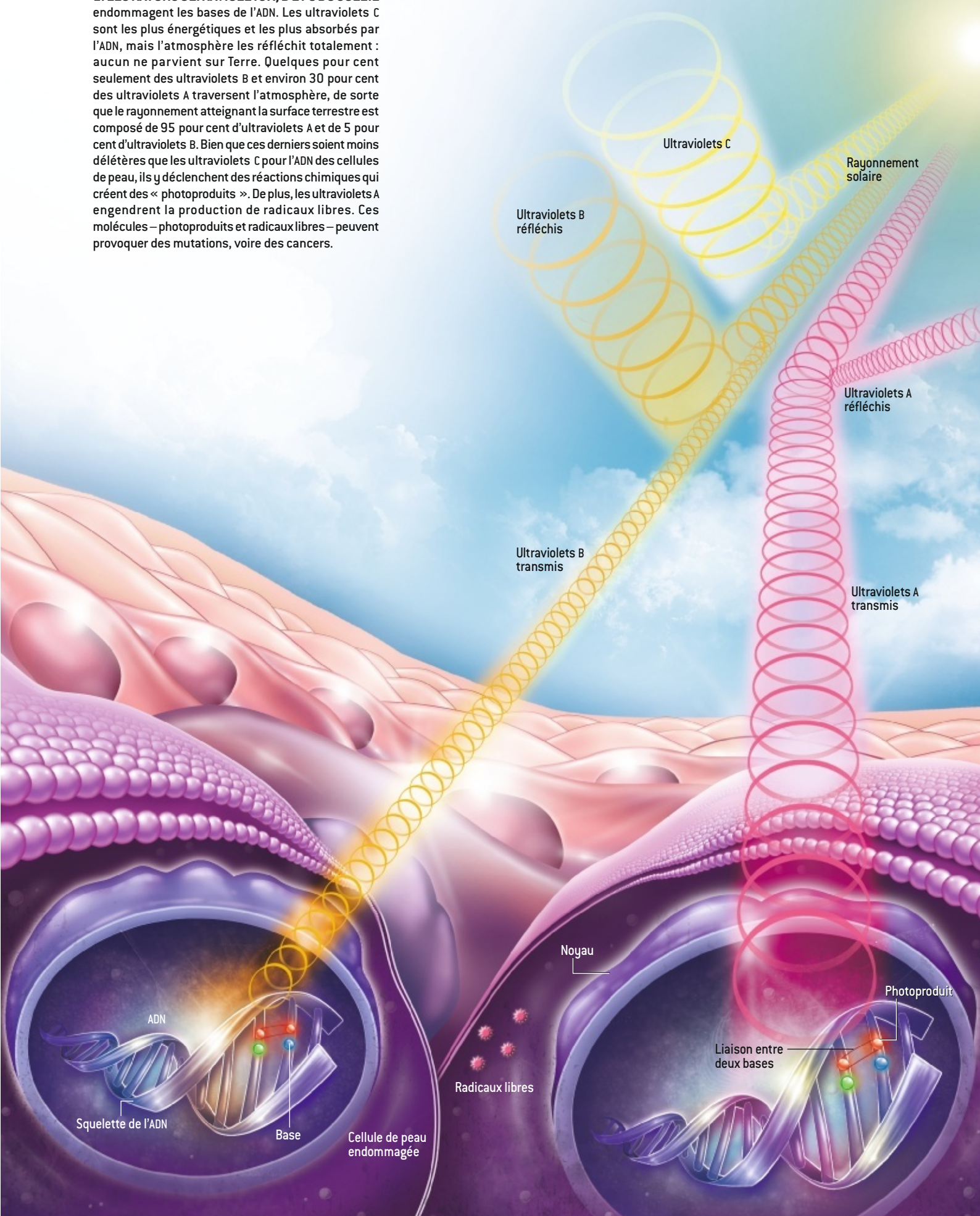
Nous avons aussi montré récemment qu'ils créent des liaisons chimiques dans l'ADN, comme le font les ultraviolets B. Or ces modifications de la structure chimique de l'ADN peuvent provoquer des mutations génétiques, voire des cancers.

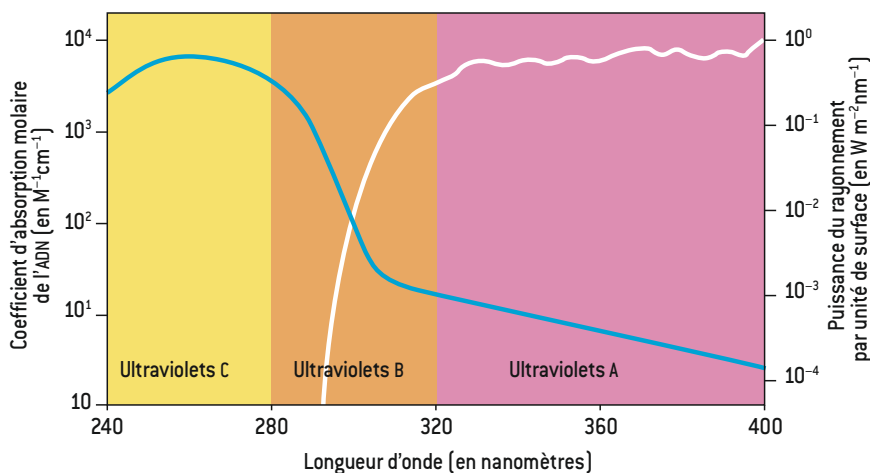
Les Français et le soleil

En 2008, une étude sociologique de la Sécurité sociale et de l'Inserm montrait que si la majorité des Français déclarent être conscients des risques liés à une exposition au soleil, leur comportement sur les plages ne traduit pas cette apparente conviction : moins d'un tiers se protègent et la plupart s'exposent aux heures les plus ensoleillées de la journée. Il n'est donc pas surprenant de constater que le nombre

1. LES RAYONS ULTRAVIOLETS A, B ET C DU SOLEIL

endommagent les bases de l'ADN. Les ultraviolets C sont les plus énergétiques et les plus absorbés par l'ADN, mais l'atmosphère les réfléchit totalement : aucun ne parvient sur Terre. Quelques pour cent seulement des ultraviolets B et environ 30 pour cent des ultraviolets A traversent l'atmosphère, de sorte que le rayonnement atteignant la surface terrestre est composé de 95 pour cent d'ultraviolets A et de 5 pour cent d'ultraviolets B. Bien que ces derniers soient moins délétères que les ultraviolets C pour l'ADN des cellules de peau, ils y déclenchent des réactions chimiques qui créent des « photoproduits ». De plus, les ultraviolets A engendrent la production de radicaux libres. Ces molécules – photoproduits et radicaux libres – peuvent provoquer des mutations, voire des cancers.





2. L'ADN DOUBLE BRIN ABSORBE surtout les ultraviolets C. Cette absorption (*courbe bleue*) diminue pour les ultraviolets B et devient très faible pour les ultraviolets A. Toutefois, la lumière solaire à la surface de la Terre, dépourvue d'ultraviolets C, contient 5 pour cent d'ultraviolets B et 95 pour cent d'ultraviolets A (*courbe blanche*). Ainsi, bien que ces derniers soient moins absorbés par l'ADN, ils y déclenchent des réactions chimiques.

de cancers de la peau augmente de cinq à sept pour cent par an en Europe, et que 90 000 nouveaux cas sont diagnostiqués chaque année en France ; 1 300 personnes en meurent. Comment les ultraviolets provoquent-ils ces cancers ?

L'ADN a une structure chimique complexe qui lui permet d'être recopié fidèlement et traduit en protéines. Il est formé de « bases » azotées (ou bases nucléiques nommées adénine, cytosine, guanine et thymine) liées à un « squelette » de sucres et de phosphates. Et il est constitué de deux « brins » enroulés en double hélice. Cependant, de nombreux agents chimiques ou physiques peuvent endommager les bases ou le squelette. Il en résulte parfois des mutations, c'est-à-dire une modification de l'information génétique. Les cellules concernées peuvent se multiplier de façon incontrôlée, première étape des mécanismes de cancérisation.

Ainsi, le rayonnement ultraviolet est capable de modifier l'ADN. C'est surtout du fait de leur présence dans la lumière solaire que les ultraviolets représentent un problème de santé publique. En effet, ils sont responsables de la majorité des cancers de la peau, les carcinomes cutanés et les mélanomes. Ce second type de tumeurs, le moins répandu (moins de dix pour cent des cancers de la peau), est inquiétant à deux titres : d'une part, les cellules tumorales d'un mélanome se répandent facilement en formant des métastases, des cellules cancéreuses mobiles qui colonisent d'autres tissus, et d'autre part, aucun

traitement efficace n'est aujourd'hui disponible (*voir l'encadré page 50*).

On étudie donc depuis longtemps les dommages de l'ADN causés par les ultraviolets, les premiers travaux datant de la fin des années 1950. Ainsi, nous verrons que sous l'effet des ultraviolets, les bases de l'ADN réagissent pour donner des « photoproduits », bien que nous n'ayons pas encore identifié toutes les étapes de leur formation.

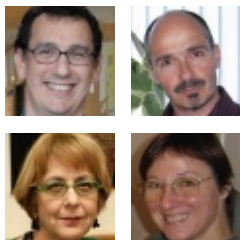
Le rayonnement ultraviolet solaire est formé de photons dont la gamme d'énergies est vaste. Les ultraviolets C, dont les longueurs d'onde sont les plus petites (de 200 à 280 nanomètres), sont les plus énergétiques et les plus efficacement absorbés par l'ADN. Les ultraviolets B (de 280 à 320 nanomètres) et les ultraviolets A (de 320 à 400 nanomètres) ont des énergies plus faibles que celles des ultraviolets C. Mais la couche d'ozone dans l'atmosphère bloque les ultraviolets C émis par le Soleil, la majorité des ultraviolets B, et deux tiers des ultraviolets A (*voir la figure 1*). Ainsi, on retrouve dans la lumière solaire au niveau du sol plus de 95 pour cent d'ultraviolets A et moins de cinq pour cent d'ultraviolets B, cette proportion variant selon l'heure de la journée, la latitude et l'altitude.

Les photons endommagent l'ADN

La longueur d'onde du rayonnement incident détermine la nature des dommages de l'ADN, et donc les conséquences biologiques. En effet, les modifications de l'ADN ne sont pas toutes délétères et ne sont pas éliminées avec la même efficacité par les systèmes cellulaires de réparation du génome.

Qui plus est, l'ADN présente un maximum d'absorption dans l'ultraviolet C (à 257 nanomètres), absorption qui diminue ensuite pour les ultraviolets B et devient très faible pour les ultraviolets A. Ainsi, les ultraviolets C sont les plus absorbés, mais – nous l'avons évoqué – ils sont réfléchis par l'atmosphère dans l'espace. À l'inverse, les ultraviolets A sont les moins absorbés, mais ils sont les mieux transmis par l'atmosphère et, par conséquent, les plus abondants. Or, étant absorbés par l'ADN, les ultraviolets B solaires engendrent des réactions photochimiques entre ses bases. Les ultraviolets A, quant à eux, provoquent l'oxydation de l'ADN *via* des mécanismes indirects.

LES AUTEURS



Thierry DOUKI est biochimiste au CEA et dirige le Laboratoire Lésions des acides nucléiques, à Grenoble, où Jean-Luc RAVANAT est biochimiste du CEA. Dimitra MARKOVITS est photochimiste du CNRS, et dirige le Laboratoire Francis Perrin au CEA Saclay. Évelyne SAGE est biologiste du CNRS au Laboratoire de biologie des radiations, à l'Institut Curie d'Orsay.

En 2003, nos équipes du CEA à Grenoble et de l'Institut Curie ont montré qu'en plus de ces mécanismes d'oxydation qui leur sont spécifiques, les ultraviolets A endommagent l'ADN comme le font les ultraviolets B. Nous avons obtenu ces résultats dans des cellules en culture et, en 2006, en collaboration avec l'Institut de recherche Pierre Fabre, nous les avons confirmés dans la peau humaine. Examinons ce qu'il en est.

Pour comprendre pourquoi les ultraviolets créent des mutations, les photochimistes étudient comment l'absorption d'un photon endommage l'ADN. Les bases (et non le squelette sucre-phosphate) absorbent les photons ultraviolets, ce qui modifie la structure électronique des atomes (la configuration des électrons autour des noyaux) : l'ADN se retrouve dans un état dit « excité », c'est-à-dire que son énergie est supérieure à celle de son état habituel. Ses constituants peuvent alors réagir les uns avec les autres.

Si les premiers travaux réalisés dès les années 1960 ont été consacrés aux bases isolées de l'ADN, nous étudions aujourd'hui les états excités de l'ADN double-brin. Ces progrès ont été rendus possibles grâce, d'une part, à la puissance des ordinateurs permettant des calculs complexes, et, d'autre part, à la spectroscopie résolue en temps, une technique qui fournit la durée de vie des espèces chimiques intermédiaires avant l'apparition d'un photoproduit (voir l'encadré ci-contre).

Nous avons d'abord étudié comment une double-hélice d'ADN absorbe les ultraviolets A. Nous avons fabriqué en laboratoire un modèle d'ADN constitué de 20 paires de bases adénine-thymine : cet ADN présente une absorption faible, mais réelle, des ultraviolets A (voir la figure 2). Au contraire, un mélange de ces bases isolées n'absorbe pas ces longueurs d'onde. Ces résultats montrent que, à l'inverse de ce que l'on a longtemps cru, les réactions photochimiques de l'ADN sont possibles non seulement avec les ultraviolets C et B, mais aussi avec les ultraviolets A.

Ensuite, grâce à la spectrométrie résolue en temps, nous avons montré que les états excités responsables de l'absorption des ultraviolets A diffèrent de ceux qui donnent lieu à l'absorption des ultraviolets B et C : ce sont des états dits à transfert de charge. En d'autres termes, dans la configuration électronique corres-

pondante, certaines bases sont chargées positivement et d'autres négativement, de sorte qu'elles peuvent réagir les unes avec les autres.

Que devient l'énergie du rayonnement ultraviolet absorbée par l'ADN ? Une part importante est dissipée sous forme de chaleur dans l'environnement de l'ADN. Une autre se répartit entre les bases, qui passent d'un état excité à un autre. Au laboratoire, nous avons montré qu'un tel transfert d'énergie commence moins de 100 femtosecondes (100×10^{-15} seconde) après l'absorption. Une toute petite fraction de l'ADN excité émet alors un rayonnement de fluorescence. Une autre, encore plus petite, subit des réactions chimiques.

La fusion des bases par les ultraviolets B

Visualiser en temps réel l'apparition d'un photoproduit dans une double hélice d'ADN reste pour le moment un défi. En effet, la probabilité de réaction de l'ADN est très faible. Pourtant, les photochimistes progressent en étudiant un simple brin formé uniquement de thymines, ce brin étant bien plus réactif qu'une double hélice. Nous avons ainsi appris que le temps qui

sépare l'absorption d'un photon ultraviolet C et la formation d'un photoproduit dépend beaucoup de la structure chimique de ce dernier. Par exemple, les dimères de thymines – des photoproduits formés de deux thymines liées – de la classe des cyclobutanes apparaissent en moins d'une picoseconde (10^{-12} seconde), alors que quatre millisecondes sont nécessaires à la formation de ceux de la classe des photoproduits (6-4) (leur nom provient de la position des atomes qui réagissent dans la molécule), car la réaction met en jeu un composé intermédiaire.

Entre 1960 et 1990, les chimistes ont étudié la structure des photoproduits découlant de ces états excités. Ils ont effectué la plupart des expériences sur de courts fragments d'ADN, faciles à obtenir en grande quantité, en les exposant à de fortes doses de rayons ultraviolets B. Ils ont ainsi montré que seulement deux des quatre bases de l'ADN sont concernées : la thymine et la cytosine, qui appartiennent à la famille des pyrimidines. Quand ces bases sont côte à côte sur un brin d'ADN, de nouvelles liaisons covalentes – des liaisons chimiques fortes – se créent entre elles, ce qui engendre des photoproduits dimériques.

L'ADN excité et ses photoproduits

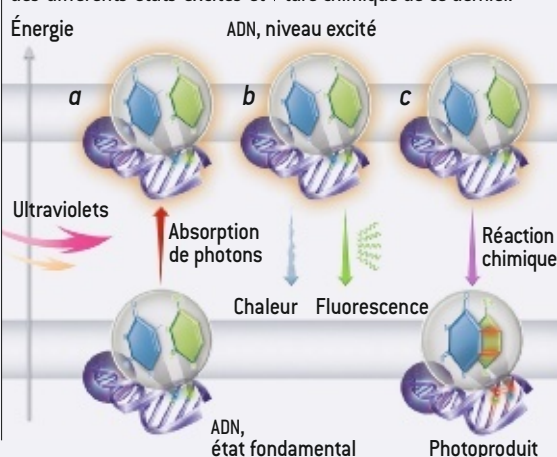
L'absorption des ultraviolets par l'ADN déclenche une série de mécanismes qui précèdent l'apparition des dommages ou photoproduits. Pour caractériser ces étapes intermédiaires, qui permettent de comprendre la formation des lésions, les photochimistes utilisent la spectroscopie résolue en temps.

L'ADN est excité par un laser ultraviolet pendant un instant très court (a). Une partie de l'énergie absorbée par l'ADN est dissipée sous forme de chaleur dans l'environnement (b). Une autre est transférée aux bases, qui passent d'un état excité à un autre. Une petite fraction de cet ADN excité émet de la fluorescence (b), tandis qu'une autre, encore plus petite, subit des réactions chimiques avec formation de photoproduits (c).

Ainsi, on détecte pendant des durées très brèves, allant de la centaine de femtosecondes à quelques nanosecondes, des signaux dont les propriétés dépendent des espèces engendrées par les rayons ultraviolets. La détection de fluorescence renseigne sur l'énergie des différents états excités et

sur leur durée de vie. On peut même identifier par le calcul le temps de présence d'espèces intermédiaires qui n'émettent pas de photons.

On a ainsi déterminé que le temps qui sépare l'absorption d'un photon et l'apparition d'un photoproduit dépend de la structure chimique de ce dernier.



Pourquoi les pyrimidines sont-elles les seules à réagir quand elles sont excitées ? Elles présentent dans leur structure chimique une double liaison entre deux atomes de carbone. En 1958, l'équipe néer-

convertis, en réagissant avec une molécule d'eau, en dérivés de l'uracile, une base de l'ARN, l'autre acide nucléique rencontré dans les cellules. Ensuite, des hétérogénéités apparaissent dans la localisation

ments, étudiée depuis des systèmes simples jusqu'à la peau humaine, a permis aux scientifiques d'expliquer l'effet biologique des ultraviolets et de nombreuses caractéristiques des cancers de la peau. Dans la cellule, la présence d'un ADN lésé peut avoir trois conséquences (voir l'encadré ci-dessous).

On a d'abord prouvé que les photoproduits peuvent engendrer l'apoptose des cellules, une mort programmée – un suicide cellulaire – capable d'éviter la division de cellules dont le génome est endommagé.

LES ULTRAVIOLETS A REPRÉSENTENT UNE GRANDE PARTIE du spectre solaire atteignant la peau et ils créent des liaisons chimiques dans l'ADN, comme le font les ultraviolets B.

landaise de R. Beukers et de W. Berends a identifié le premier produit résultant du réarrangement des doubles liaisons de deux thymine. Une telle structure contenant un cycle à quatre atomes est un dimère de type cyclobutane. Depuis cette découverte, on a identifié d'autres photoproduits et on a mis en évidence le même type de réactions entre deux cytosines, ou une thymine et une cytosine.

On retrouve donc un grand nombre de photoproduits dans l'ADN. Pour les détecter, on a développé des méthodes qui combinent des approches biochimiques, avec la production chez le lapin d'anticorps reconnaissant les photoproduits, et de chimie analytique, par exemple avec une séparation chromatographique des photoproduits de l'ADN (voir l'encadré page 51). On peut alors quantifier la formation des différents photoproduits.

Ainsi, les séquences thymine-thymine et thymine-cytosine réagissent davantage sous l'effet des ultraviolets que les couples cytosine-thymine et cytosine-cytosine. Outre son influence sur l'efficacité de la réaction, la séquence modifie le rapport entre dimères cyclobutanes et photoproduits (6-4). Cette répartition des différents photoproduits est la même dans l'ADN pur en solution et dans les cellules et la peau : une fois le photon absorbé, l'environnement modifie peu la photochimie de l'ADN. En revanche, le rendement des réactions diminue quand on passe des cellules isolées à la peau, du fait de sa pigmentation. En effet, la mélanine, un biopolymère absorbant les ultraviolets, protège la peau, les peaux foncées, plus riches en mélanine, résistant mieux aux rayons du Soleil.

En plus de ces informations sur l'efficacité de formation des photoproduits, on a aussi déterminé certaines propriétés des dommages causés à l'ADN. Tout d'abord, on sait que les photoproduits de la cytosine sont relativement instables : ils sont

des photoproduits le long d'un gène : certaines régions réagissent plus que d'autres et sont donc plus riches en photoproduits. Des effets structuraux sont sans doute en cause dans ces variations. Et d'autres facteurs modifient la réactivité locale, par exemple la présence de protéines fixées sur l'ADN.

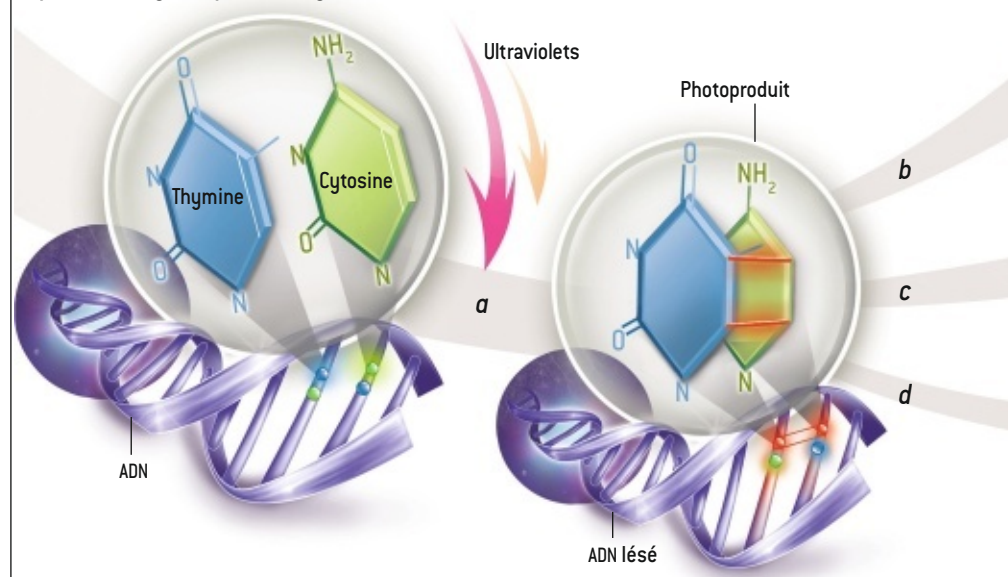
Que se passe-t-il quand l'ADN est endommagé, c'est-à-dire qu'il contient des photoproduits ? Une suite d'évène-

Du dommage à la mutation

Par ailleurs, dès les années 1970, des études sur des cellules en culture ont montré que les mutations de l'ADN provoquées par les ultraviolets impliquaient des dimères thymine-cytosine ou cytosine-cytosine. Et au début des années 1990, Douglas

QUE DEVIENT L'ADN ENDOMMAGÉ ?

Sous l'effet des ultraviolets, les bases de l'ADN subissent des réactions chimiques. Par exemple, une base thymine forme deux liaisons avec une base cytosine pour donner un photoproduit de type cyclobutane (a). Dans une cellule, l'ADN ainsi lésé peut suivre trois voies. Souvent, le photoproduit déclenche la mort de la cellule et est, par conséquent, lui-même éliminé avec la cellule (b). Parfois, mais beaucoup plus rarement, il provoque une mutation (c) : il réagit avec une molécule d'eau, de sorte que le cycle de la cytosine dans le photoproduit devient un dérivé de l'uracile, une base de structure semblable à la thymine. Si la cellule se divise, cet ADN est recopié par des enzymes qui ne reconnaissent pas la cytosine (transformée en uracile) et la prennent pour une thymine : elles synthétisent donc un brin muté où une thymine remplace la cytosine initiale. Toutefois, des systèmes de réparation existent dans les cellules (d). Une enzyme reconnaît le photoproduit et d'autres ouvrent les deux brins de l'ADN ; la région lésée est éliminée, de sorte que des enzymes peuvent synthétiser un nouveau brin intact.



Brash, de l'École de médecine Yale, et ses collègues ont découvert ces mêmes mutations dans le gène de la protéine p53, ce qui a renforcé l'intérêt pour cette « signature ultraviolette », car ces mutations existent dans la majorité des cancers de la peau.

Les chimistes ont alors expliqué pourquoi des mutations peuvent apparaître quand l'ADN est lésé. En synthétisant des fragments d'ADN contenant des dommages connus, ils ont montré que les polymérases, les enzymes recopiant – ou dupliquant – l'ADN, sont induites en erreur lors de la lecture de l'information génétique là où se trouvent des photoproduits. Examinons comment.

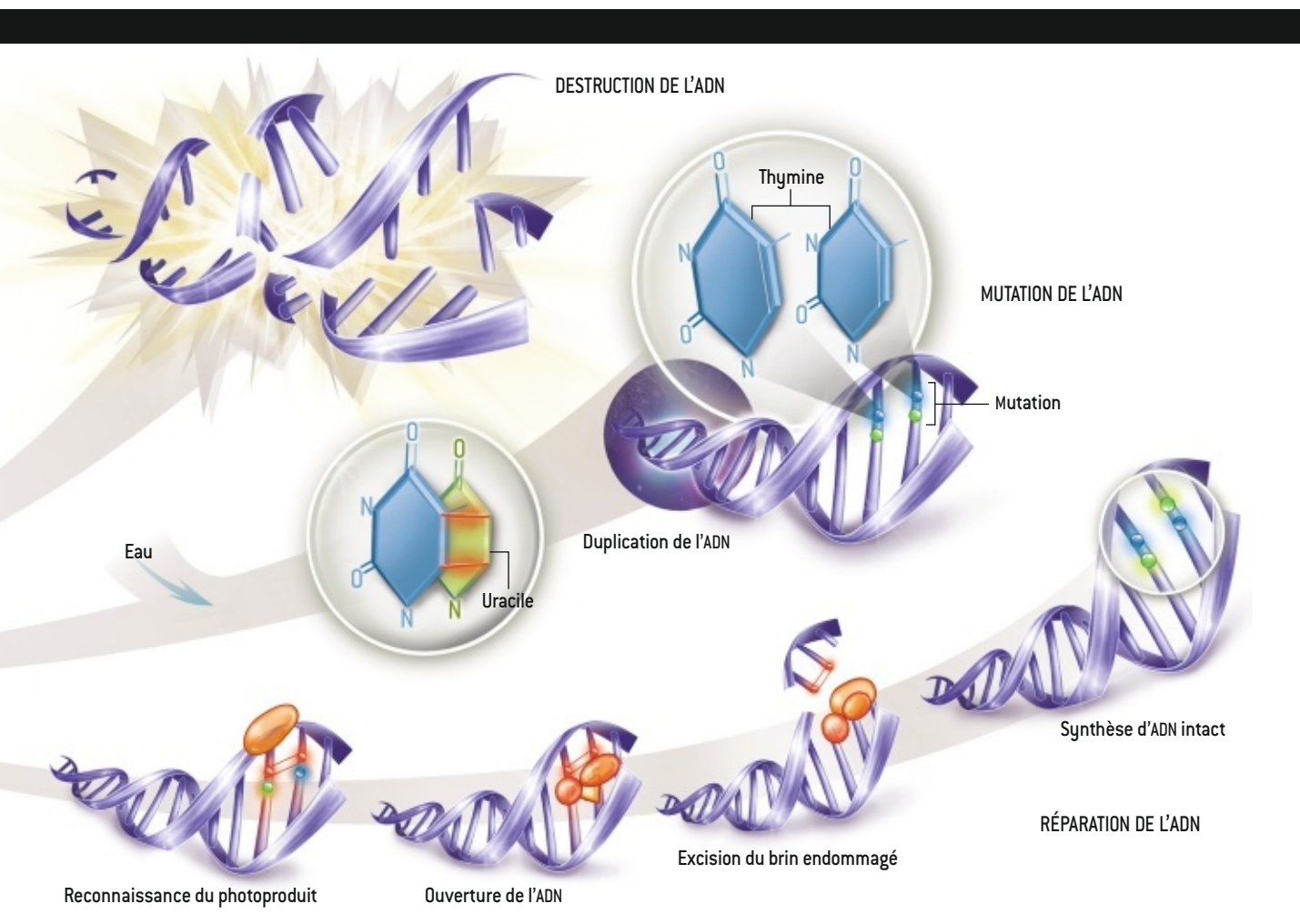
Chaque fois qu'une cellule se divise, son ADN est recopié. Les enzymes de duplication copient normalement un brin d'ADN en associant à chaque base du brin modèle une base « complémentaire » sur le second : une thymine est associée à une adénine et une cytosine à une guanine (et inver-

sement). Or les polymérases peuvent être leurrées par les cytosines converties en uracile dans les photoproduits. En effet, l'uracile ressemble beaucoup à la thymine (et non à la cytosine), de sorte que les enzymes incorporent une adénine sur le brin complémentaire en cours de synthèse au lieu d'une guanine.

On observe par conséquent les mutations suivantes : des changements de séquences thymine-cytosine en thymine-thymine, et cytosine-cytosine en thymine-thymine. On trouve rarement de mutations aux séquences thymine-thymine, car les deux thymines d'un dimère sont quand même associées à deux adénines, même si elles sont liées. Puis, en construisant des cellules, et des souris génétiquement modifiées, pouvant éliminer l'une ou l'autre classe de photoproduits, les biologistes ont montré que ce sont surtout les dimères cyclobutanes, plutôt que les photoproduits (6-4), qui sont responsables de ces mutations.

Mort cellulaire, mutations : les rayons ultraviolets B – puisque la plupart des études ont eu lieu avec des ultraviolets B jusque-là – sont donc délétères pour les cellules. Toutefois, des systèmes de réparation de l'ADN existent dans tous les organismes vivants : ils éliminent les photoproduits en restaurant la séquence d'ADN initiale.

Chez l'homme, une série de protéines réparent les dimères en plusieurs étapes. D'abord, le photoproduit est localisé grâce à la déformation qu'il provoque dans l'ADN. Puis, d'autres protéines coupent le brin d'ADN endommagé de part et d'autre du photoproduit, en y laissant une brèche. Enfin, des protéines reconstituent correctement le brin, en recopiant la portion d'ADN qui lui fait face. Des déficiences génétiques inactivant des protéines de ce mécanisme de réparation sont la cause de la sensibilité au cancer de la peau 1 000 fois plus grande des « enfants de la lune », atteints du syndrome *Xeroderma*



Julia Fraud

pigmentosum. Ces enfants ne peuvent s'exposer au soleil sans risquer de développer un cancer. Voilà une preuve supplémentaire du rôle des photoproduits dimériques dans les cancers de la peau.

Bien que les ultraviolets A soient moins absorbés par l'ADN que les ultraviolets B, ils peuvent causer des dommages à l'ADN, voire des mutations. Il y a une trentaine d'années, on a proposé une explication qui implique des mécanismes indirects, dits de photosensibilisation.

Les ultraviolets A oxydent l'ADN...

Dans ce cas, ce n'est pas l'ADN qui absorbe les photons, mais d'autres constituants de la cellule, tels des vitamines ou des facteurs enzymatiques. En interagissant avec un photon, la molécule « photosensibilisatrice » passe dans un état excité; elle peut réagir avec les molécules environnantes et déclencher des réactions d'oxydation, un phénomène nommé stress oxydant. Les réactions d'oxydation font intervenir des dérivés délétères de l'oxygène. En général, le photosensibilisateur excité transfère son énergie à l'oxygène moléculaire (O_2), qui passe à son tour

dans un état excité nommé oxygène singulet. Cette molécule réagit facilement avec des composés riches en électrons. Des chimistes ont montré que la cible de l'oxygène singulet dans l'ADN est la base guanine. Et en 2004, nous avons montré que la réaction de l'oxygène singulet avec l'ADN entraîne la formation de 8-oxo-7,8-dihydroguanine (8oxoGua).

Un deuxième mécanisme de photosensibilisation implique les « radicaux libres », en particulier le radical hydroxyle, qui peuvent oxyder les quatre bases et casser la chaîne d'ADN en y dégradant les sucres. Une dernière voie, moins fréquente, est l'oxydation directe de l'ADN, quand le photosensibilisateur y arrache un électron, la guanine étant encore la cible principale.

À nouveau, les outils chromatographiques et biochimiques permettent aux scientifiques de voir les dommages de l'ADN dans les cellules exposées aux ultraviolets A. L'oxydation de la guanine en 8-oxoGua est l'événement le plus fréquent. On observe aussi des cassures de chaîne, mais avec une probabilité deux à trois fois inférieure. Les trois autres bases sont moins endommagées que la guanine. On estime ainsi que la formation transi-

toire de l'oxygène singulet et la production de 8-oxoGua correspondent à 80 pour cent du stress oxydant dû à une irradiation par des ultraviolets A.

La présence de 8-oxoGua dans l'ADN conduit à la mutation d'une paire de bases guanine-cytosine en thymine-adénine. Toutefois, la réparation de la 8-oxoGua est efficace. L'arsenal enzymatique qui évite l'accumulation de 8-oxoGua est différent de celui qui répare les dimères. L'enzyme clé est une ADN-glycosylase, enzyme qui coupe la liaison dite N-glycosidique reliant un sucre et une base. Elle élimine ainsi la base modifiée de l'ADN, et d'autres enzymes terminent la réparation de l'ADN en incorporant une guanine intacte.

...et créent des photoproduits

L'effet des ultraviolets A se limite-t-il, comme on l'a longtemps cru, au stress oxydant? Non, et une des classes de photoproduits dimériques rencontrés avec les ultraviolets B, les dimères cyclobutanes, contribue aux dommages de l'ADN provoqués par les ultraviolets A. Une seule expérience sur des bactéries et quelques

Les cancers de la peau

Avec 90 000 nouveaux cas chaque année en France, les cancers de la peau sont les cancers les plus fréquents. Ils représentent environ un tiers des cas, deux fois plus que les cancers du sein. L'exposition au soleil serait responsable de la majorité des cancers de la peau. On a d'abord mis en évidence ce lien par la localisation des tumeurs sur les régions du corps les plus exposées au soleil. Par ailleurs, les données épidémiologiques montrent une augmentation de la fréquence des cancers cutanés avec l'exposition des individus, notamment ceux qui travaillent en extérieur. Tendance inquiétante : depuis 30 ans, on observe une augmentation constante du nombre de cancers de la peau dans les pays industrialisés. C'est l'augmentation de l'exposition au soleil à des fins récréatives qui en est la cause.

En fait, plusieurs pathologies se cachent derrière ces données. Les

cancers de la peau sont issus des cellules de la couche supérieure de la peau, l'épiderme, qui sont les plus exposées aux rayons solaires. Les kératinocytes représentent 90 pour cent des cellules de cette couche superficielle. Ils synthétisent la kératine, une protéine fibreuse et inso-



Carcinome spinocellulaire

luble dans l'eau, qui protège et imperméabilise la peau. Ils sont impliqués dans la plupart des tumeurs, tels les carcinomes basocellulaires qui concernent les kératinocytes les plus profonds de l'épiderme, dans sa couche basale. Ces carcinomes basocellulaires sont les can-

cancers de la peau les plus fréquents (plus de 80 pour cent des cas). Ils sont facilement repérés et enlevés par chirurgie, et ne produisent pas de métastases, des cellules cancéreuses mobiles.

Moins fréquents, les carcinomes spinocellulaires (se dévelop-



Mélanome

pant dans les kératinocytes de la couche dite épineuse, située au-dessus de la couche basale de l'épiderme) sont plus graves, car ils produisent parfois des métastases. Les mélanocytes, les cellules de l'épiderme fabriquant la mélanine et responsables du teint hâlé, sont quant

à eux à l'origine d'un cancer plus rare, mais très grave : le mélanome. Ces tumeurs produisent de nombreuses métastases dans l'organisme, même aux premiers stades de leur développement.

Qui plus est, il n'existe aujourd'hui aucun traitement efficace contre les mélanomes, et la mortalité est élevée. Toutefois, en juin 2011, l'équipe de Corinne Bertolotto, de l'INSERM à Nice, a montré pourquoi les mélanomes sont souvent résistants aux traitements chimiothérapeutiques et a identifié de nouveaux médicaments potentiels. Ces molécules ciblent certaines formes mutées des protéines responsables de la croissance incontrôlée des cellules dans les mélanomes. Elles ne seraient efficaces que pour les patients portant ces mutations, mais elles entraînent, dans environ la moitié des cas, une diminution importante et rapide du nombre des cellules tumorales.

données éparses l'avaient suggéré ; c'est en montrant que la fréquence des dimères était supérieure à celle des produits d'oxydation qu'au milieu des années 2000, nos équipes ont remis en lumière cet aspect de la photochimie des ultraviolets A.

En outre, les travaux d'autres groupes ont confirmé que des dimères de pyrimidines participent à l'apparition de mutations dans les cellules humaines exposées aux ultraviolets A. Nous avons par ailleurs montré que la proportion des différents photoproduits dimériques était différente de celle obtenue avec les ultraviolets B : nous ne trouvons pas de photoproduits (6-4), très peu de dimères de cytosines, et une majorité de dimères de thymines. Les dimères thymine-cytosine ne représentent qu'environ dix pour cent du total. Cette proportion se retrouve dans tous les types cellulaires. De plus, à l'inverse des ultraviolets B, la peau protège peu contre la formation des dimères par les ultraviolets A (car la mélanine absorbe moins ces rayons).

Nous avons donc affaire à une photochimie de l'ADN particulière dans les cellules exposées aux ultraviolets A : l'absorption de ces photons par l'ADN, bien que faible, est assez efficace pour créer des photoproduits. C'est la différence des états excités initiaux de l'ADN qui expliquerait la différence de nature des dommages entre ultraviolets A et ultraviolets B.

Des crèmes anti-ultraviolets A

Les conséquences de ces résultats récents sont importantes. Bien que la formation des dimères avec les ultraviolets A soit moins efficace qu'avec les ultraviolets B, la prédominance des ultraviolets A dans la lumière à laquelle nous sommes exposés suggère qu'une fraction non négligeable des photoproduits mutagènes provienne de cette partie du spectre. Ces données soulignent aussi les propriétés génotoxiques des ultraviolets A, c'est-à-dire qu'ils peuvent engendrer des mutations, voire des cancers.

Ce risque cancérigène, ajouté au rôle prédominant des ultraviolets A dans le vieillissement cutané, a conduit les législateurs à imposer aux écrans solaires du commerce une photoprotection efficace dans cette partie du spectre solaire. La réévaluation du pouvoir cancérigène des ultraviolets A a entraîné un autre changement : le Centre de recherche interna-

Voir les lésions de l'ADN

Quand l'ADN absorbe les ultraviolets, il peut être cassé ou oxydé et subir des dommages, c'est-à-dire que ses bases fusionnent pour former des photoproduits. Plusieurs approches ont été développées pour « observer » ces lésions.

La plus fréquente repose sur l'utilisation d'anticorps – des molécules du système immunitaire – reconnaissant les photoproduits ; on injecte de l'ADN irradié – donc lésé – à des lapins, de sorte que leur système immunitaire produit des anticorps dirigés contre les lésions de l'ADN qu'il ne reconnaît pas. Puis on récupère les anticorps dans le sang des animaux et on les utilise comme des marqueurs qui se fixent sur l'ADN des cellules plus ou moins bien selon la quantité de photoproduits. On visualise ainsi des dommages dans des coupes de peau.



Patrick Avavan / CEA

D'autres techniques permettent aux scientifiques de quantifier les cassures des brins d'ADN, ainsi que certaines bases modifiées et des dimères. On « traite » d'abord l'ADN pour qu'il soit coupé aux endroits des lésions. Puis on visualise les fragments en les séparant dans un gel selon une technique dite de chromatographie. En couplant cette approche avec la technique de PCR (*polymerase chain reaction*), qui recopie un

grand nombre de fois les fragments d'ADN, on peut même déterminer la position des photoproduits dans un gène.

La dernière technique permet de compter et de caractériser les dommages après les avoir « détachés » de l'ADN. Pour ce faire, on couple un appareil de chromatographie liquide avec un spectromètre de masse (*voir la photo*), qui peut quantifier en une seule fois tous les dimères et une dizaine de produits d'oxydation.

tional sur le cancer a classé les équipements de bronzage artificiel riches en ultraviolets A parmi les agents cancérigènes pour l'homme. L'Institut national du cancer a repris cette classification et a publié un rapport sur le sujet en 2010.

Depuis une trentaine d'années, on conçoit mieux le rôle des dommages de l'ADN dans l'apparition des cancers de la peau. Ces informations ont permis aux scientifiques de mieux comprendre la réaction des cellules aux ultraviolets et d'améliorer les stratégies de protection contre cet agent mutagène que sont les rayonnements ultraviolets du Soleil.

Toutefois, de nombreuses questions liées à la formation de ces dommages restent ouvertes. Ainsi, les photoproduits joueraient un rôle de « détecteurs » pour déclencher le bronzage et protéger davantage la peau (mais on ignore comment). Leur présence serait aussi liée à la modulation des défenses immunitaires et à l'apparition des coups de soleil. Depuis la première description du dimère de thymine il y a un demi-siècle, les dommages engendrés par les ultraviolets dans l'ADN méritent encore l'attention des scientifiques de toutes disciplines. ■

✓ BIBLIOGRAPHIE

A. Banyasz *et al.*, Base pairing enhances fluorescence and favors cyclobutane dimer formation induced upon absorption of UVA radiation by DNA, *Journal of the American Chemical Society*, vol. 133, pp. 5163-5165, 2011.

S. Mouret *et al.*, UVA-induced cyclobutane pyrimidine dimers in DNA : a direct photochemical mechanism ?, *Organic & Biomolecular Chemistry*, vol. 8, pp. 1706-1711, 2010.

S. Mouret *et al.*, Cyclobutane pyrimidine dimers are predominant DNA lesions in whole human skin exposed to UVA radiation, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 103, pp. 13765-13770, 2006.

J.-L. Ravanat *et al.*, Singlet oxygen-mediated damage to cellular DNA determined by the comet assay associated with DNA repair enzymes, *Biological Chemistry*, vol. 385, pp. 17-20, 2004.

L'inflation cosmique

Paul Steinhardt

Selon la théorie de l'inflation, proposée il y a 30 ans, l'Univers aurait connu une brève phase d'expansion vertigineuse juste après le Big Bang. Cependant, cette théorie qui est au cœur de la cosmologie moderne souffre de sérieuses difficultés.

Il y a 30 ans, en 1981, Alan Guth, alors postdoctorant au Centre de l'accélérateur linéaire de Stanford, a donné une série de séminaires qui ont introduit l'« inflation » dans le lexique de la cosmologie. Ce terme désigne une brève phase d'expansion monstrueusement accélérée, qui aurait eu lieu juste après le Big Bang. L'un de ces séminaires se tenait à l'Université Harvard, où j'étais moi-même postdoctorant. J'ai été immédiatement enthousiasmé par l'idée et j'y ai souvent réfléchi depuis. Nombre de mes collègues en astrophysique, en physique gravitationnelle et en physique des particules ont aussi été séduits. Aujourd'hui encore, le développement de la théorie de l'inflation et ses tests forment un domaine de recherche très dynamique.

La raison d'être de la théorie de l'inflation est de combler une lacune dans la théorie du Big Bang. Selon cette dernière, l'Univers se dilate en se refroidissant lentement depuis ses débuts il y a quelque 13,7 milliards d'années. L'expansion et ce refroidissement expliquent précisément de nombreuses caractéristiques de l'Univers actuel et passé. Mais il y a un problème. Dans la théorie du Big Bang, les conditions initiales de l'Univers sont

précisément fixées : il était initialement très homogène, ne présentant que d'infimes variations de la distribution d'énergie, et il était plat, c'est-à-dire que les rayons lumineux et les objets en mouvement libre se propageaient en ligne droite, comme dans l'espace euclidien usuel.

Une théorie présentée comme un fait établi

En vertu de quoi l'Univers primordial aurait-il dû être homogène et plat ? *A priori*, ces conditions initiales semblent improbables. C'est là que l'inflation intervient. Selon A. Guth, même si l'Univers avait fait une entrée en scène en désordre, avec une distribution d'énergie très hétérogène et une courbure compliquée, une expansion brève et brutale aurait dilué l'énergie jusqu'à ce qu'elle soit uniformément répartie et aurait aplani toute courbure de l'espace. Après cette brève période d'inflation, l'Univers aurait continué à se dilater, mais au rythme modéré de la théorie du Big Bang, à partir des conditions initiales adéquates pour que son contenu évolue vers les étoiles et les galaxies que nous voyons aujourd'hui.

L'inflation est une idée tellement séduisante que les cosmologistes, moi compris, la présentent souvent aux étudiants et au grand public comme un fait établi. Et pourtant, si les arguments en sa faveur n'ont cessé de se renforcer depuis qu'A. Guth en a proposé l'idée, il en est de même des arguments qui vont à son encontre !

Les deux argumentaires n'ont pas eu le même écho. Les éléments en faveur de l'inflation sont connus d'un grand nombre de physiciens, astrophysiciens et amateurs. Mais peu de gens s'intéressent aux arguments en défaveur de l'inflation, hormis quelques physiciens qui essaient de répondre aux questions gênantes. La plupart des cosmologistes ont mené leurs travaux en utilisant ou en testant les prédictions de la théorie de l'inflation sans se soucier des questions de fond, en espérant qu'elles finiraient par être résolues. Malheureusement, les problèmes ont résisté à tous nos efforts jusqu'à présent.

Ayant contribué à la fois à la théorie de l'inflation et aux théories concurrentes, je me sens partagé, et j'ai le sentiment que de nombreux collègues ne savent pas trop quoi penser non plus des arguments contre l'inflation. Pour mettre en scène cette situa-