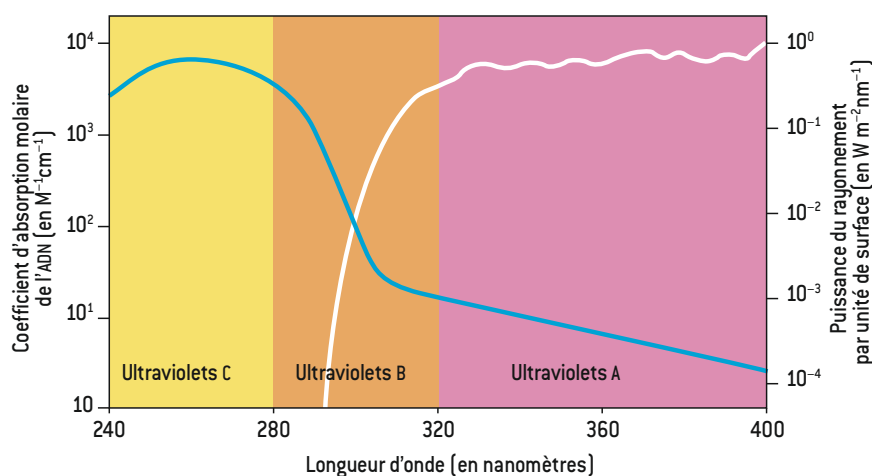




2. L'ADN DOUBLE BRIN ABSORBE surtout les ultraviolets C. Cette absorption (*courbe bleue*) diminue pour les ultraviolets B et devient très faible pour les ultraviolets A. Toutefois, la lumière solaire à la surface de la Terre, dépourvue d'ultraviolets C, contient 5 pour cent d'ultraviolets B et 95 pour 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.

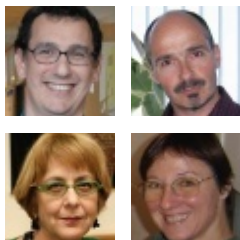
Ainsi, le rayonnement ultraviolet est capable de modifier l'ADN. C'est surtout du fait de leur présence dans la lumière solaire que les ultraviolets représentent un problème de santé publique. En effet, ils sont responsables de la majorité des cancers de la peau, les carcinomes cutanés et les mélanomes. 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 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.

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.

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.

