

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.

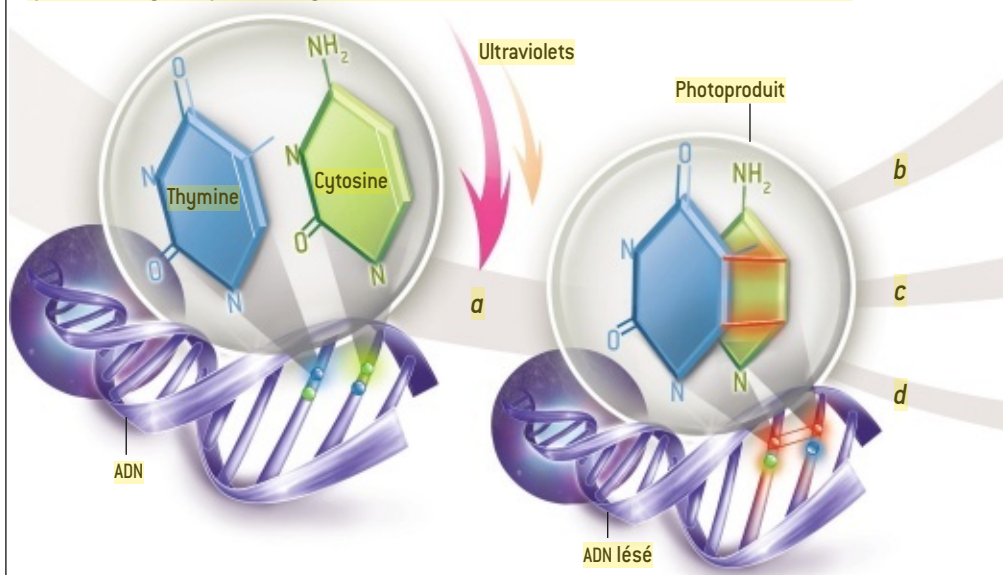
Que se passe-t-il quand l'ADN est endommagé, c'est-à-dire qu'il contient des photoproduits ? Une suite d'évène-

## 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 ?

**S**ous 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.

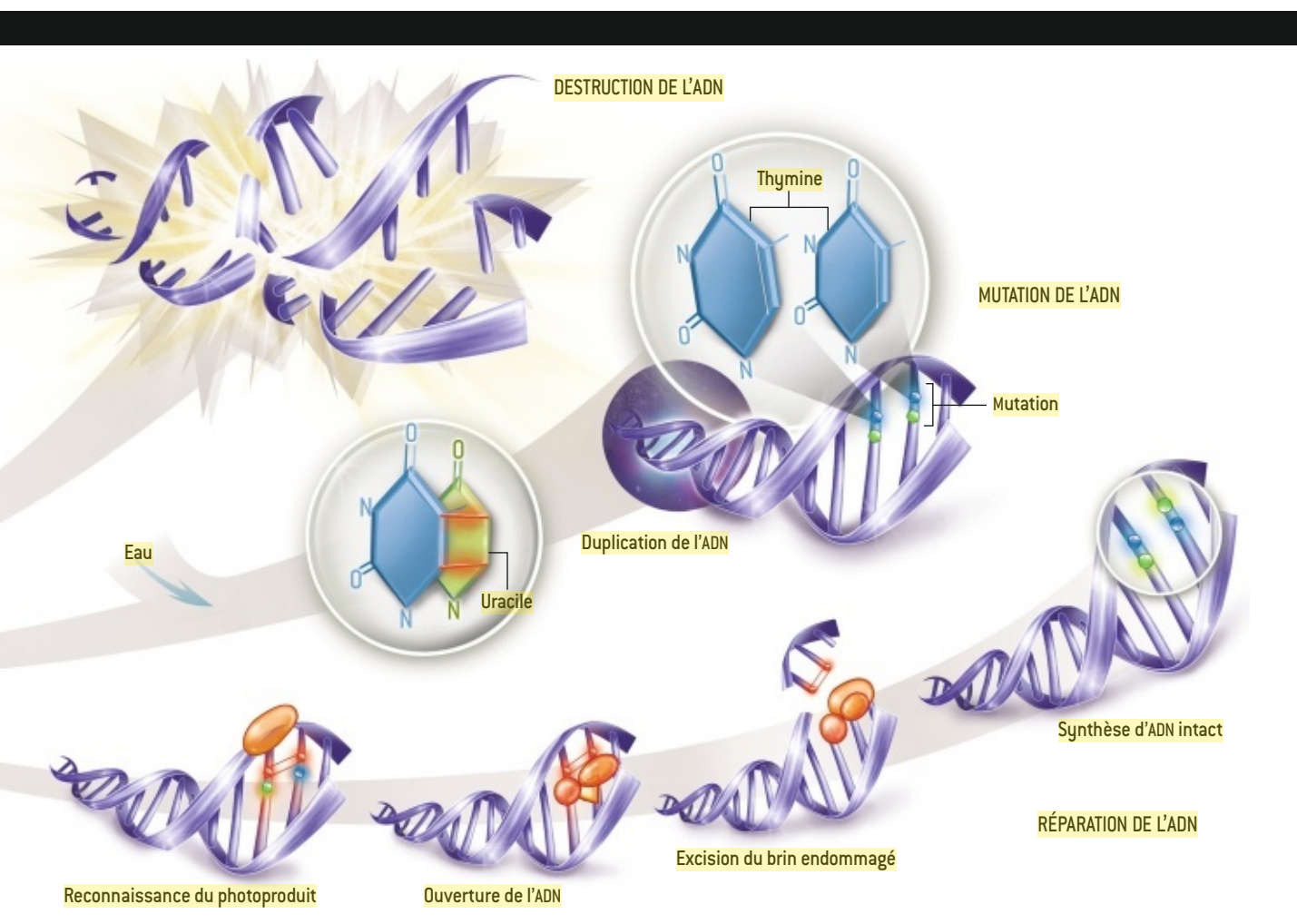
Chaque fois qu'une cellule se divise, son ADN est recopié. Les enzymes de duplication copient normalement un brin d'ADN en associant à chaque base du brin modèle une base « complémentaire » sur le second : une thymine est associée à une adénine et une cytosine à une guanine (et inver-

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*



*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.