

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.