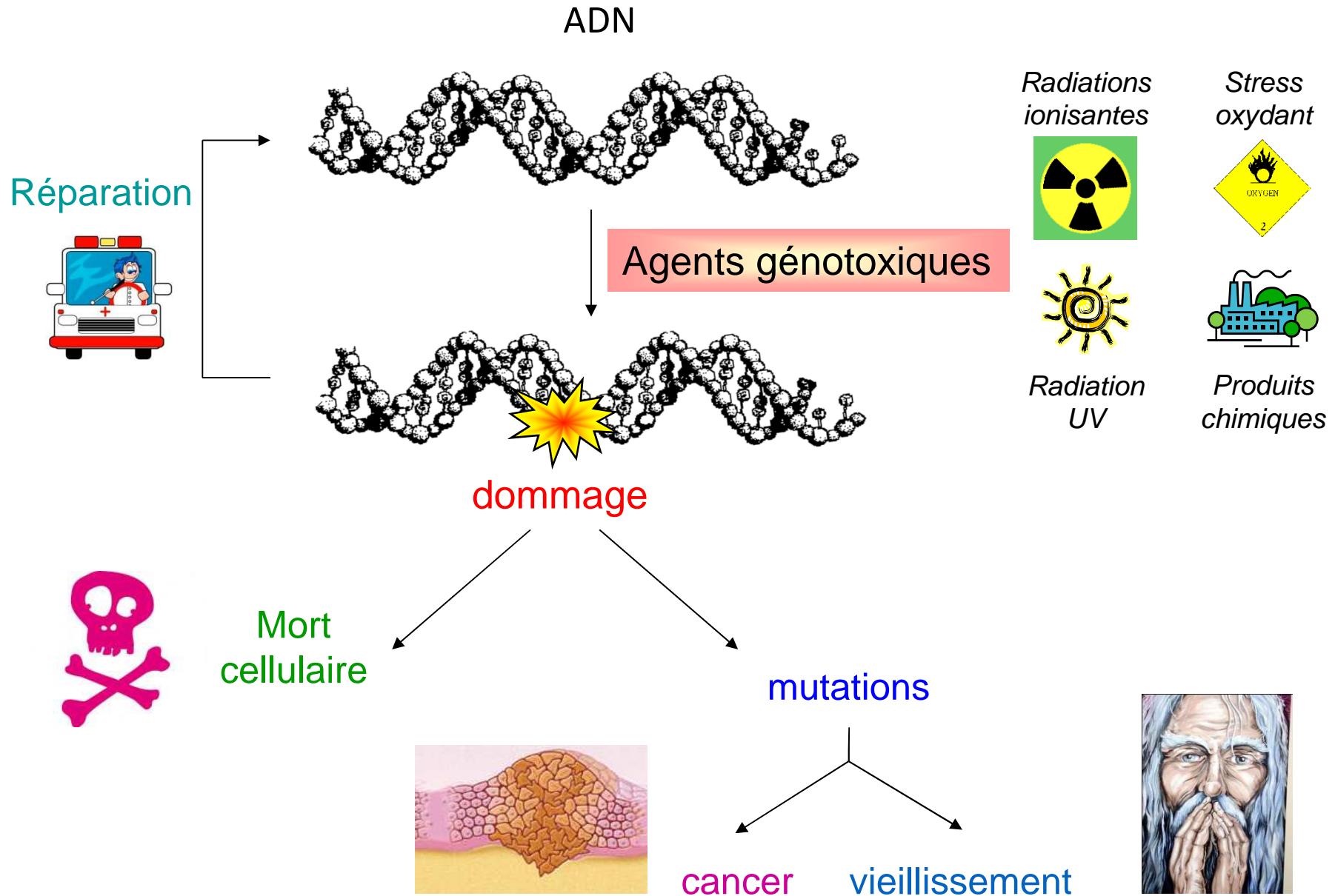


Induction de photoproduits de l'ADN par les UV : données récentes

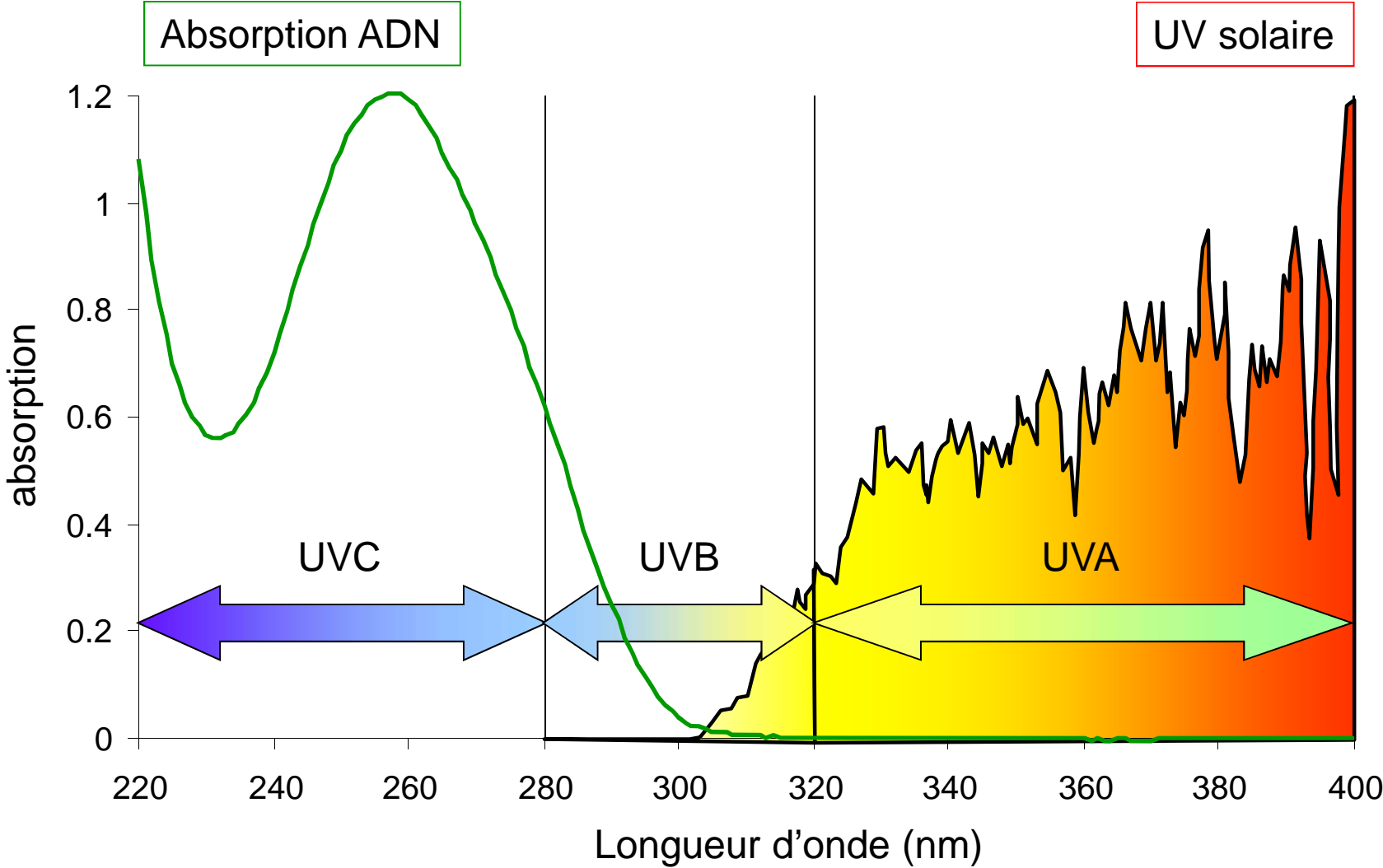
Thierry Douki

Laboratoire « Lésions des Acides Nucléiques »
INAC/SCIB UMR E3 CEA/UJF
CEA-Grenoble

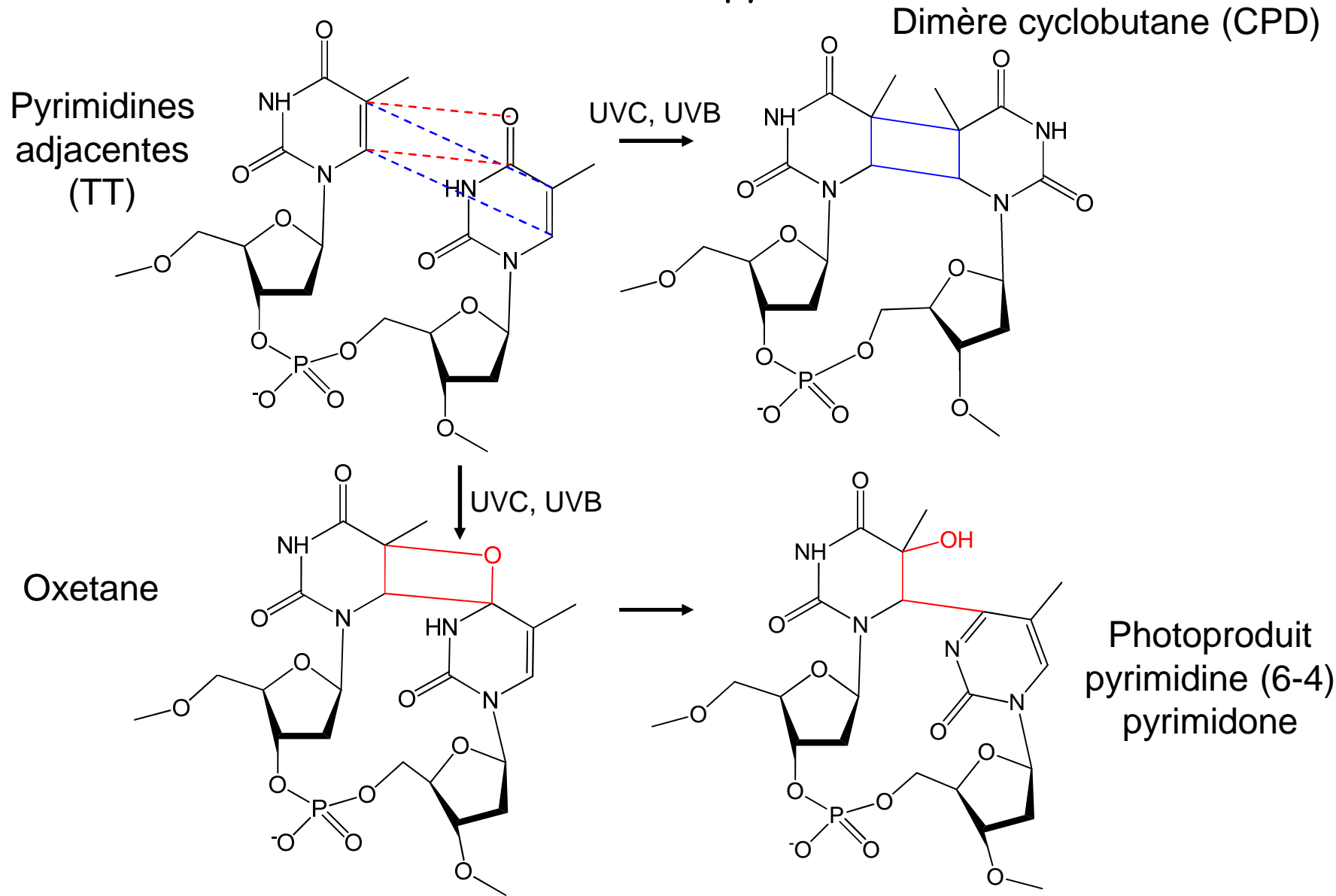
Conséquences des dommages de l'ADN



L'ADN, cible majeure du rayonnement UVC et UVB

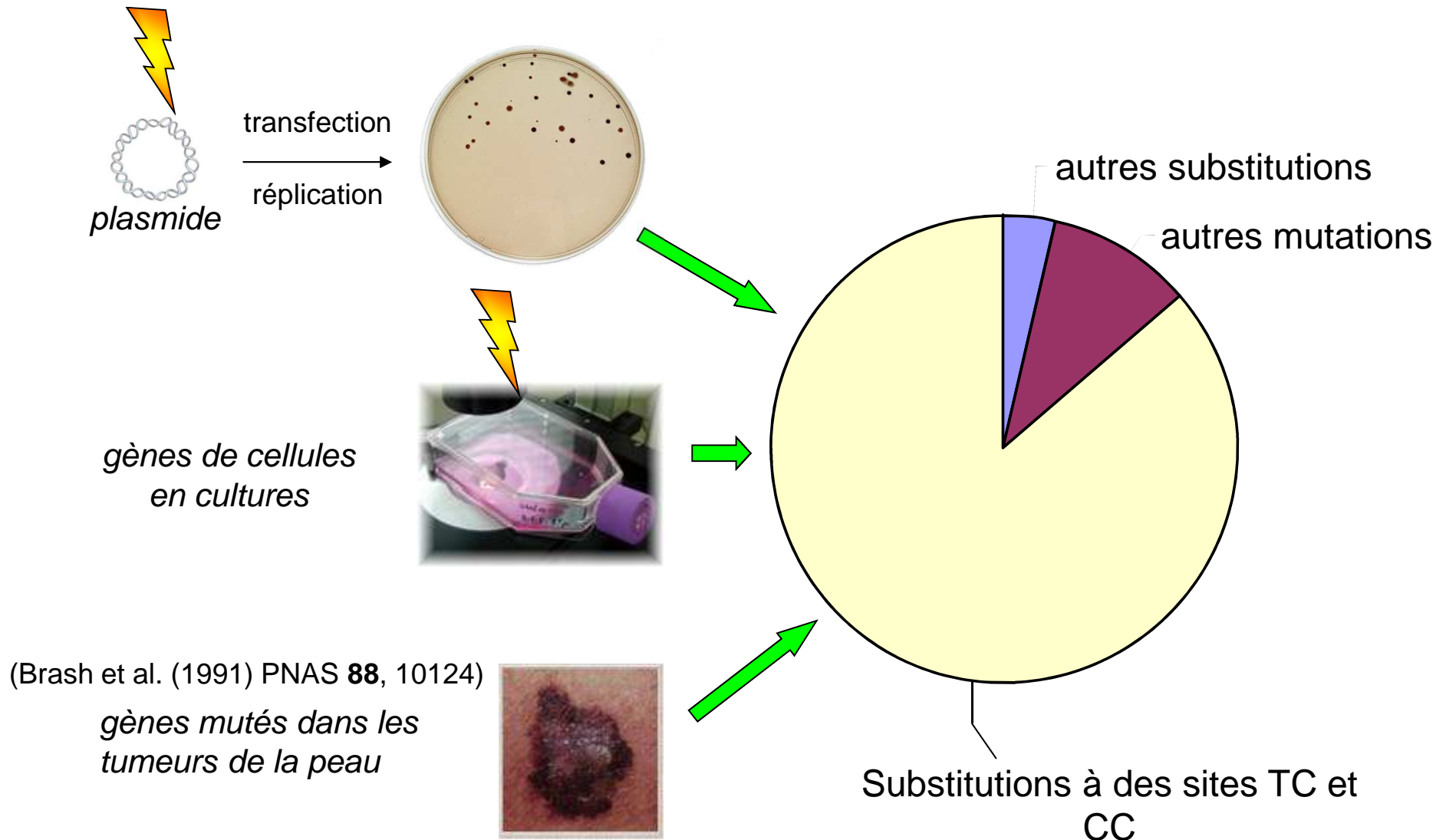


Les dimères de pyrimidines



Mêmes réaction aux sites TC, CT et CC !!

Mutations induites par le rayonnement UVB



Un effet mutagène principalement des dimères cyclobutane, les photoproduits (6-4) étant rapidement réparés (You et al J. Biol. Chem. 2001; Jans et al. Current Biol. 2005)

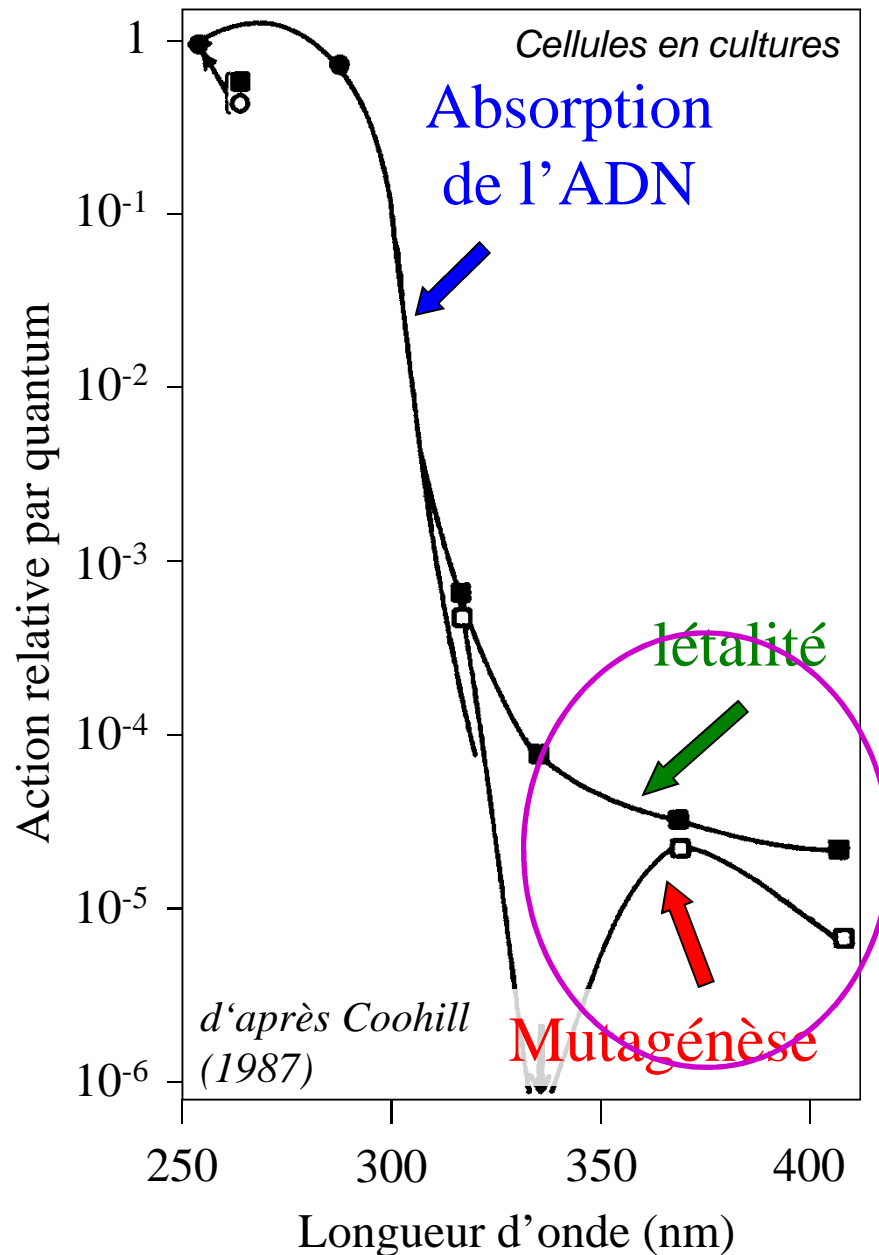
UVA et dommages de l'ADN



Théories admises :

- 1) les UVA endommagent l'ADN par la production **d'espèces oxydantes** dues à des photosensibilisateurs intracellulaires.
- 2) L'ADN **n'absorbe pas les UVA** (donc pas de dimères)

Le rayonnement UVA, un autre agent génotoxique



En UVB (et UVC) ($280 < \lambda < 320$ nm) :

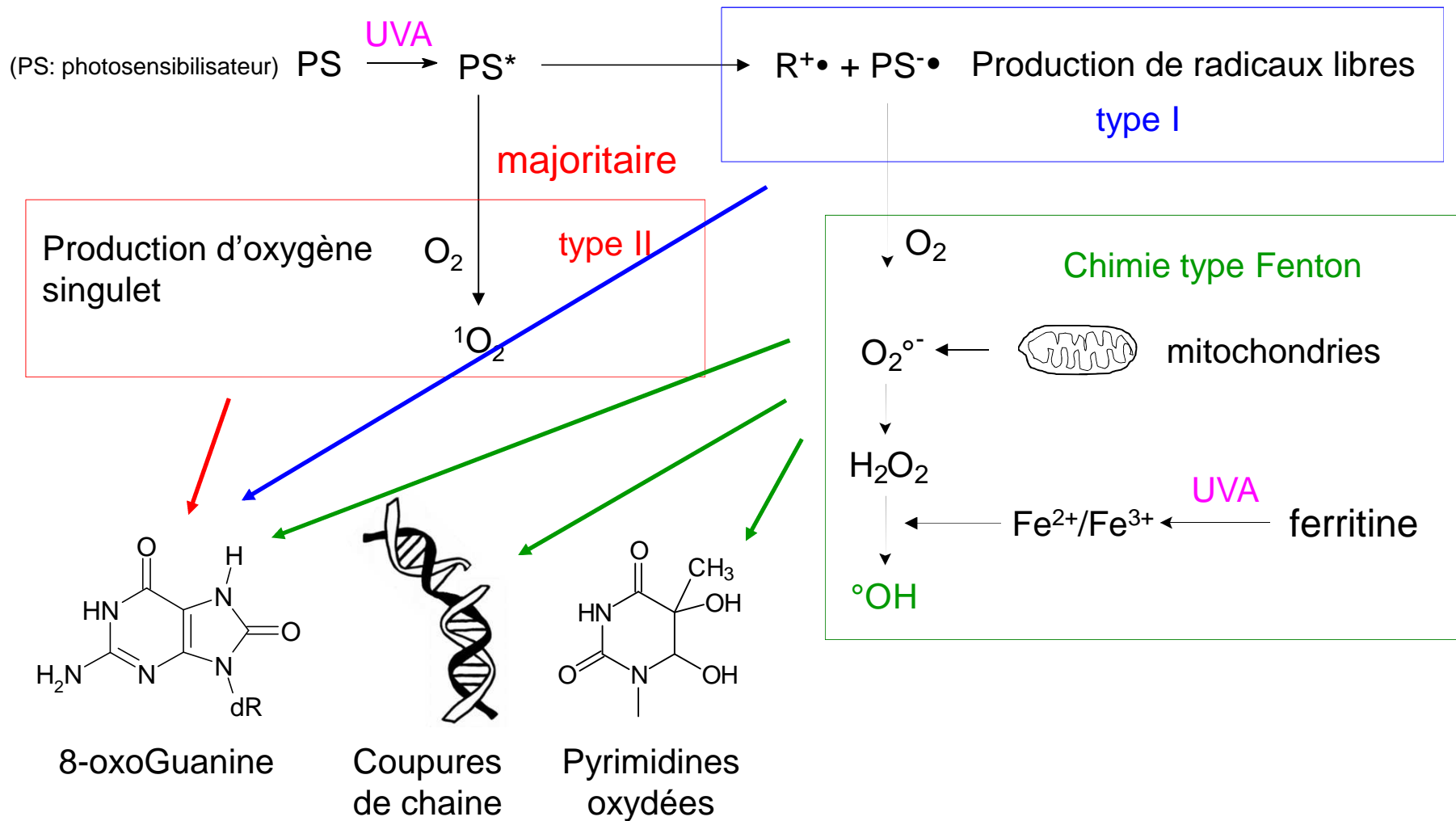
- Effet direct
- Formation des dimères de pyrimidines

En UVA ($320 < \lambda < 400$ nm) :

- Effet indirect
- Photosensibilisateurs endo- ou exogènes
- Stress oxydant intense

+ dimères cyclobutane par absorption directe (beaucoup plus faible qu'avec UVB)

Induction du stress oxydant par les UVA : des mécanismes indirects (photosensibilisation)

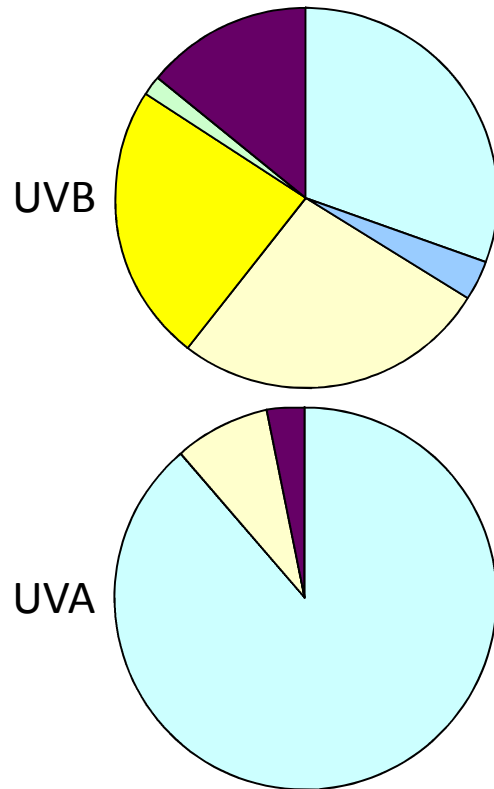


Dimères de pyrimidine et UVA

Formation dans des cellules en culture

Douki et al. (2003) *Biochemistry* **42**, 9221-9226

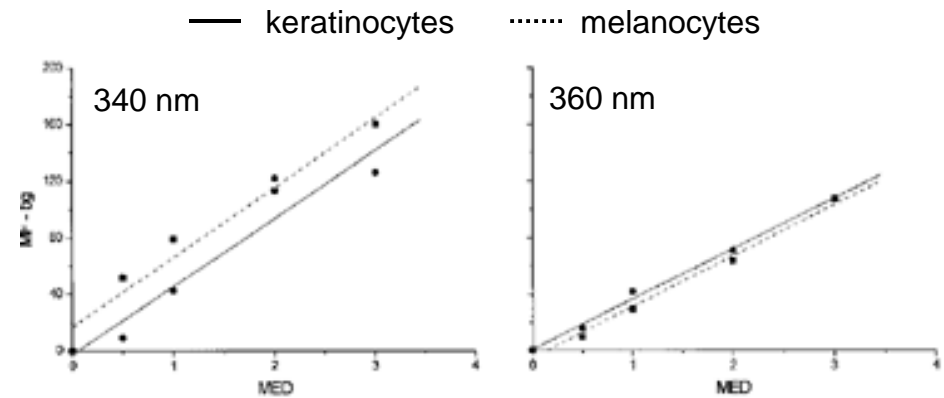
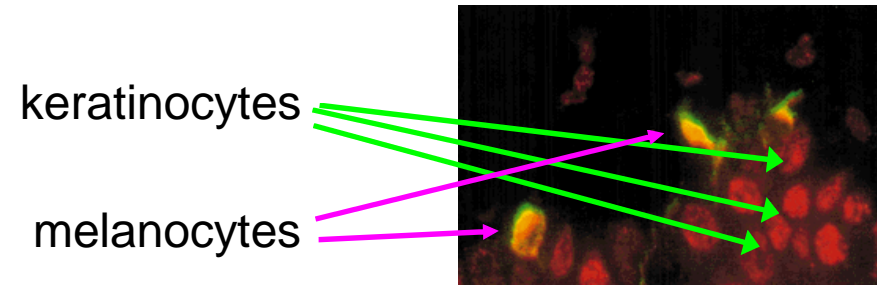
- TT CPD □ TC CPD ■ CT CPD
- 6-4 TT ■ 6-4 TC □ CC CPD



(aussi Tyrrell 1974, Freeman 1990, Kielbassa 1997, Zhang 1997, Perdiz 2000, Rochette 2003, Courdavault 2004)

CPDs induits par les UVA dans la peau

Young et al. 1998, *J. Invest. Dermatol*, **111**, 936-940

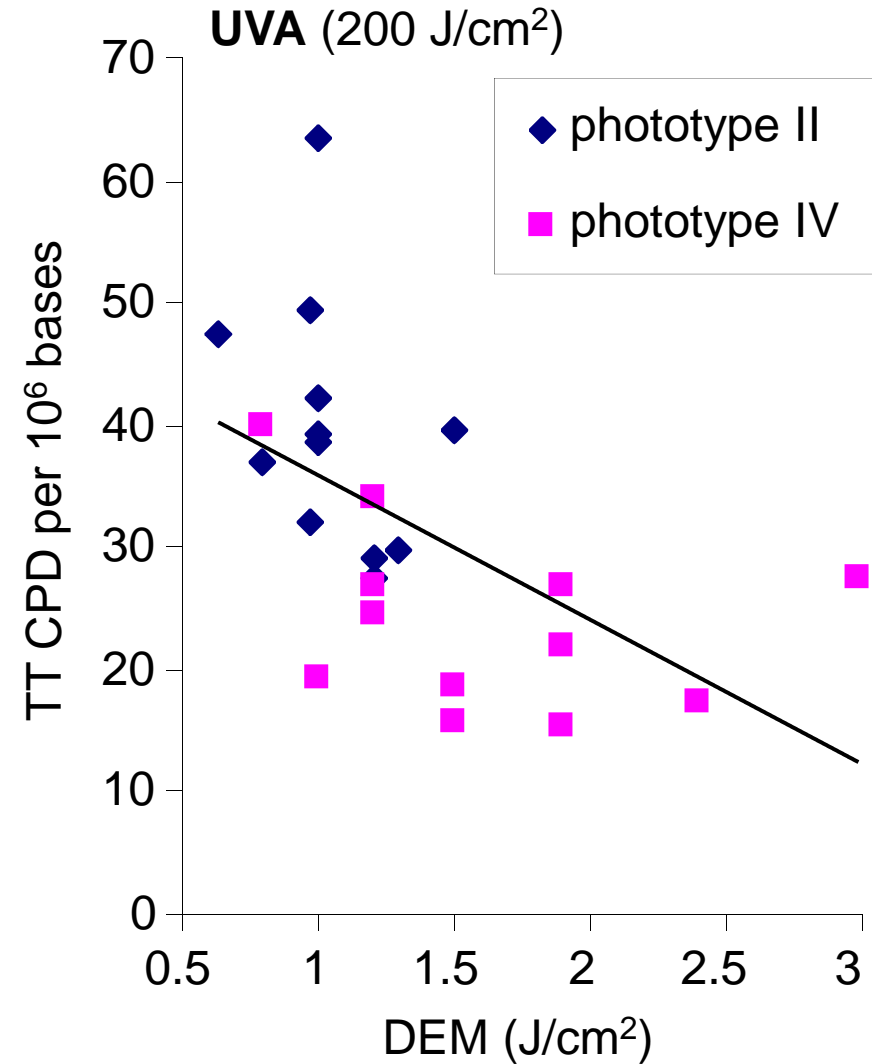
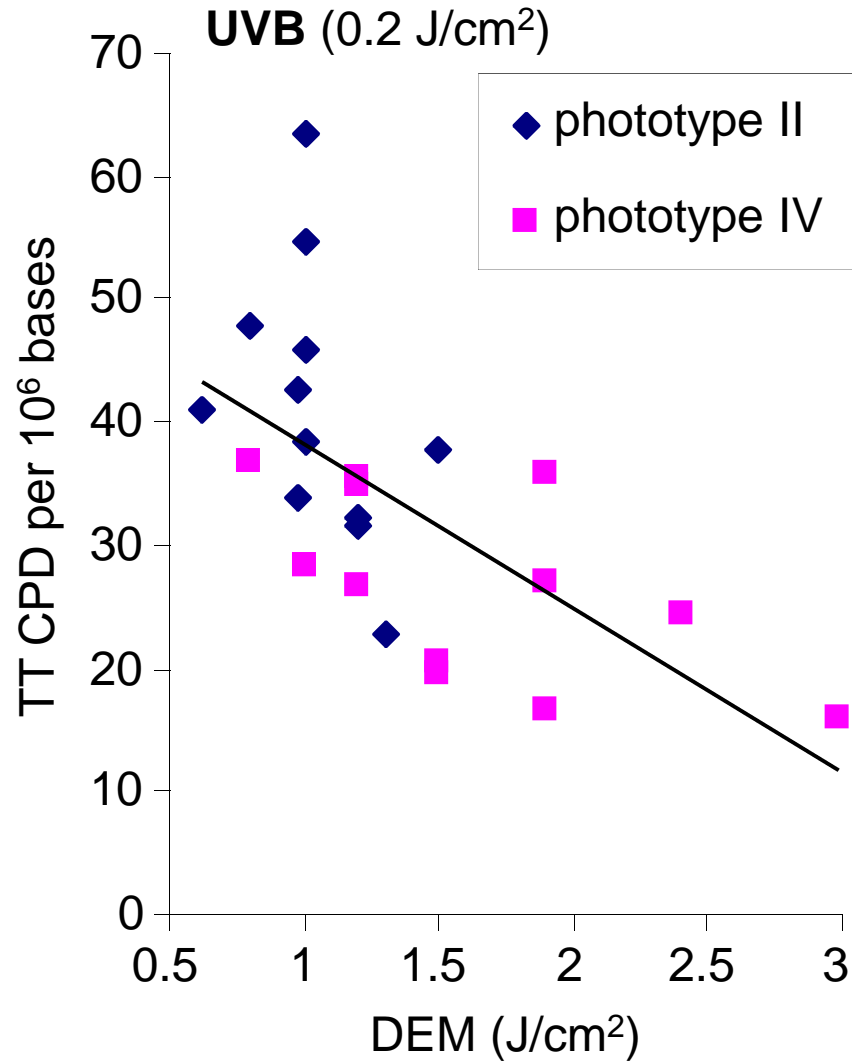


(aussi Freeman, 1989, Burren et al. 1998, Mouret et al. 2006)

Phototype et CPDs chez des volontaires

Mouret et al. (2011) J. Invest. Dermatol. **131**, 1539

Irradiations *ex-vivo*



Le phototype reflète la protection contre les dimères induits par les UVB et les UVA

Un mécanisme direct du à une faible absorption des UVA par l'ADN

Mouret *et al.* (2010) *Org. Biomol. Chem.*, **8**, 1706–1711

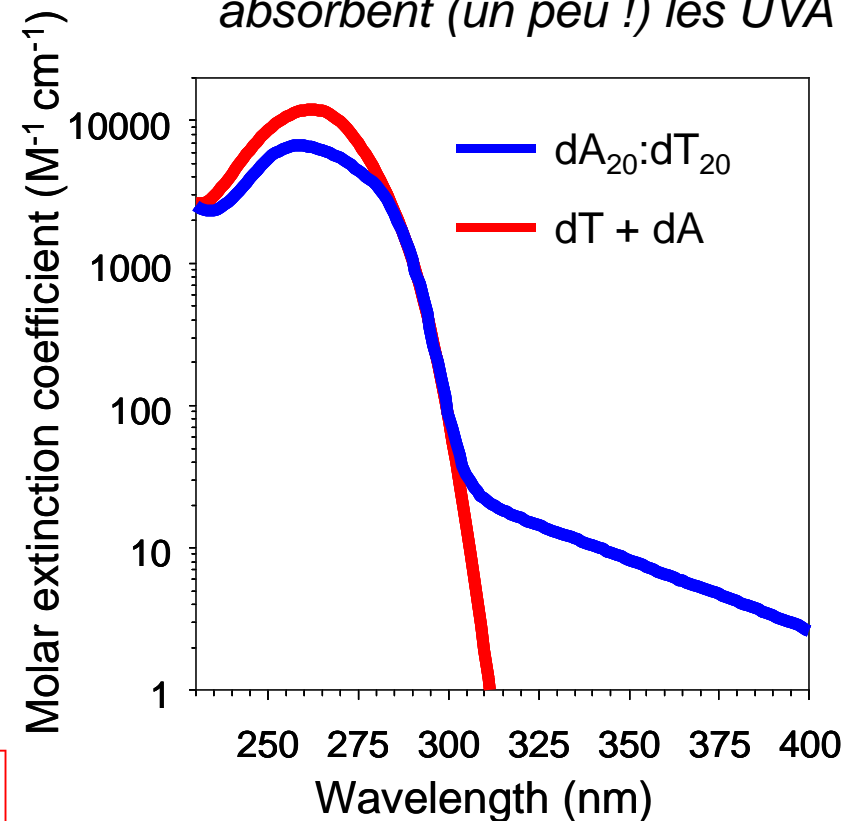
Comparaison ADN isolé / cellules

λ cut-off (nm)	ADN isolé	Kératinocytes
322	0.188	0.197
351	0.168	0.205
374	0.151	0.204
390	0.246	0.233

(en lésions/ 10^6 bases per $J\ cm^{-2}$)

Même rendement entre ADN isolé et cellulaire :
pas de rôle majeur de **photosensibilisateurs**
endogènes
Observation à toutes les longueurs d'onde UVA :
pas un problème de **contamination UVB**

Les doubles brins d'ADN absorbent (un peu !) les UVA

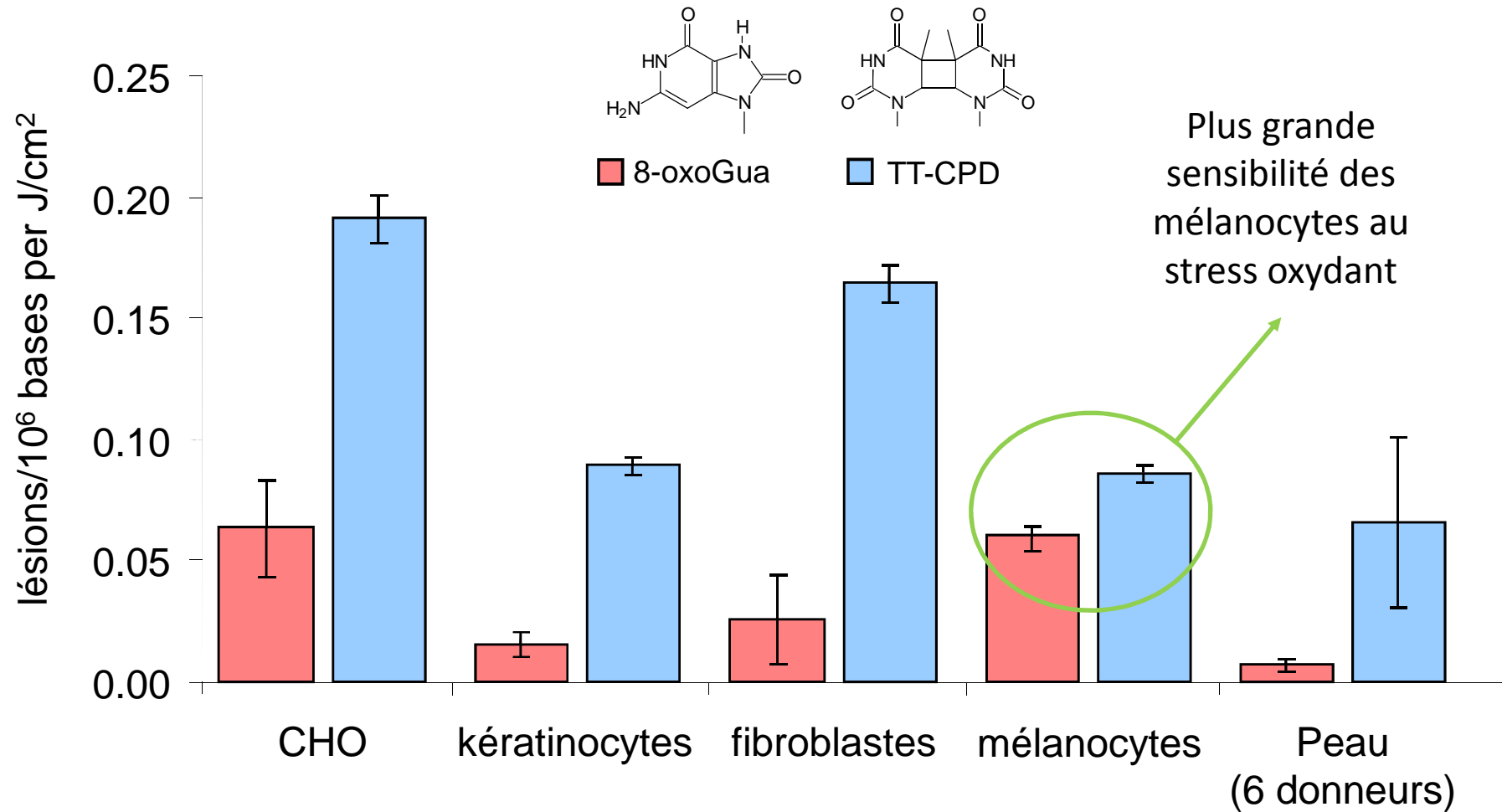


Données en accord avec ADN bactérien (Sutherland 1981)

→ Les CPDs en UVA :
un mécanisme direct

Plus de dimères que d'oxydation après irradiation UVA

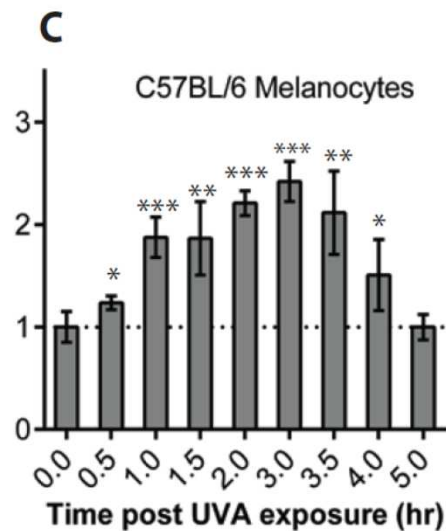
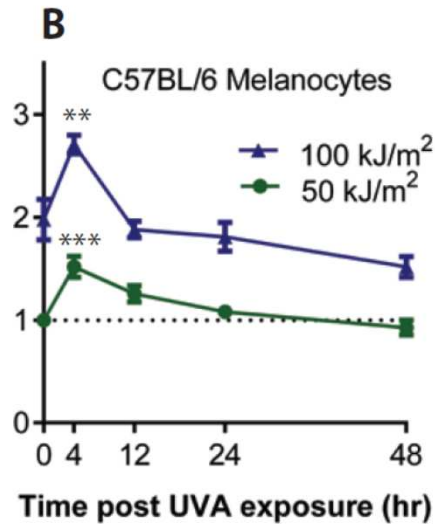
Douki et al. (2003) *Biochemistry* **42**, 9221 Courdavault et al. (2004) *Mutat. Res.* **556**, 135
Mouret et al. (2006) *PNAS* **103**, 13765 Mouret et al. (2012) *Photochem. Photobiol. Sci.* **11**, 155



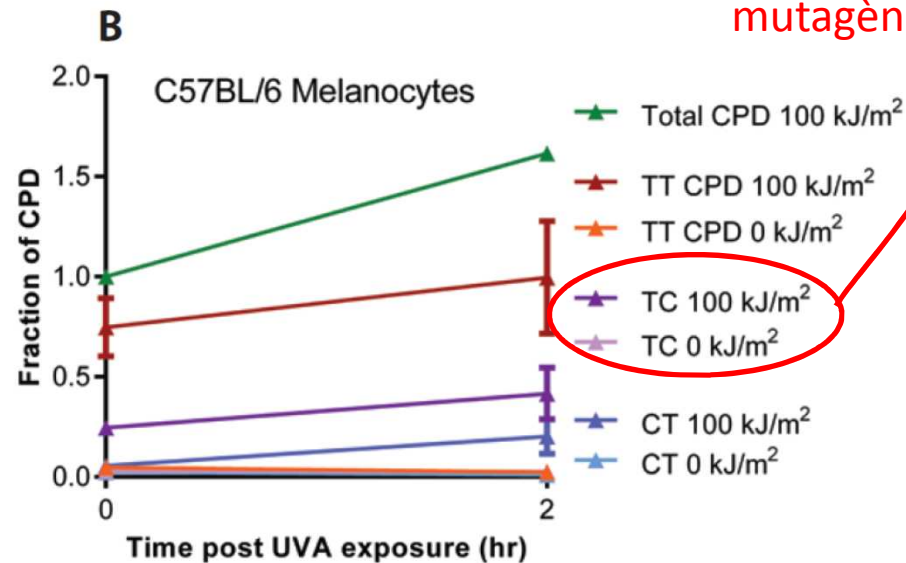
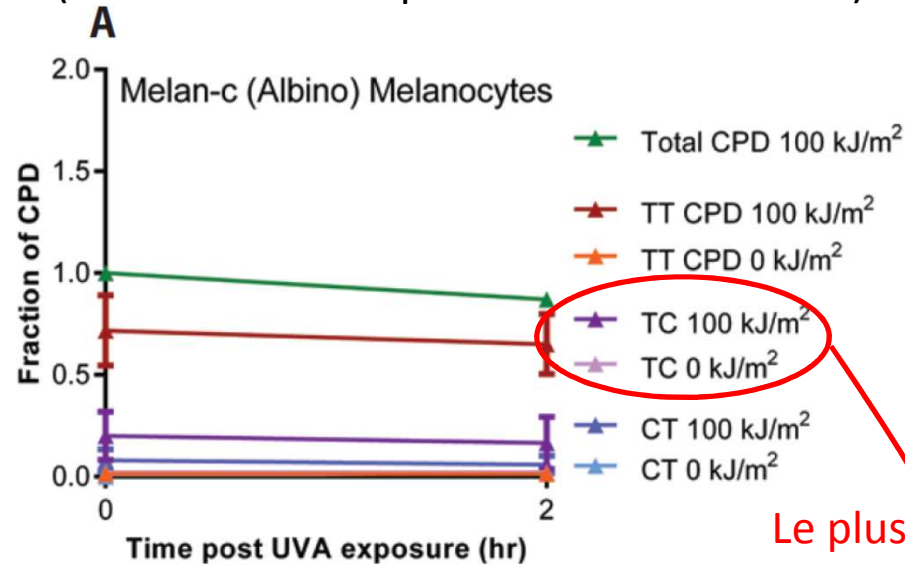
La formation retardées de dimères après l'exposition aux UVA

Premi et al. (2015) *Science* 347

Mélanocytes de souris
(quantification par anticorps)

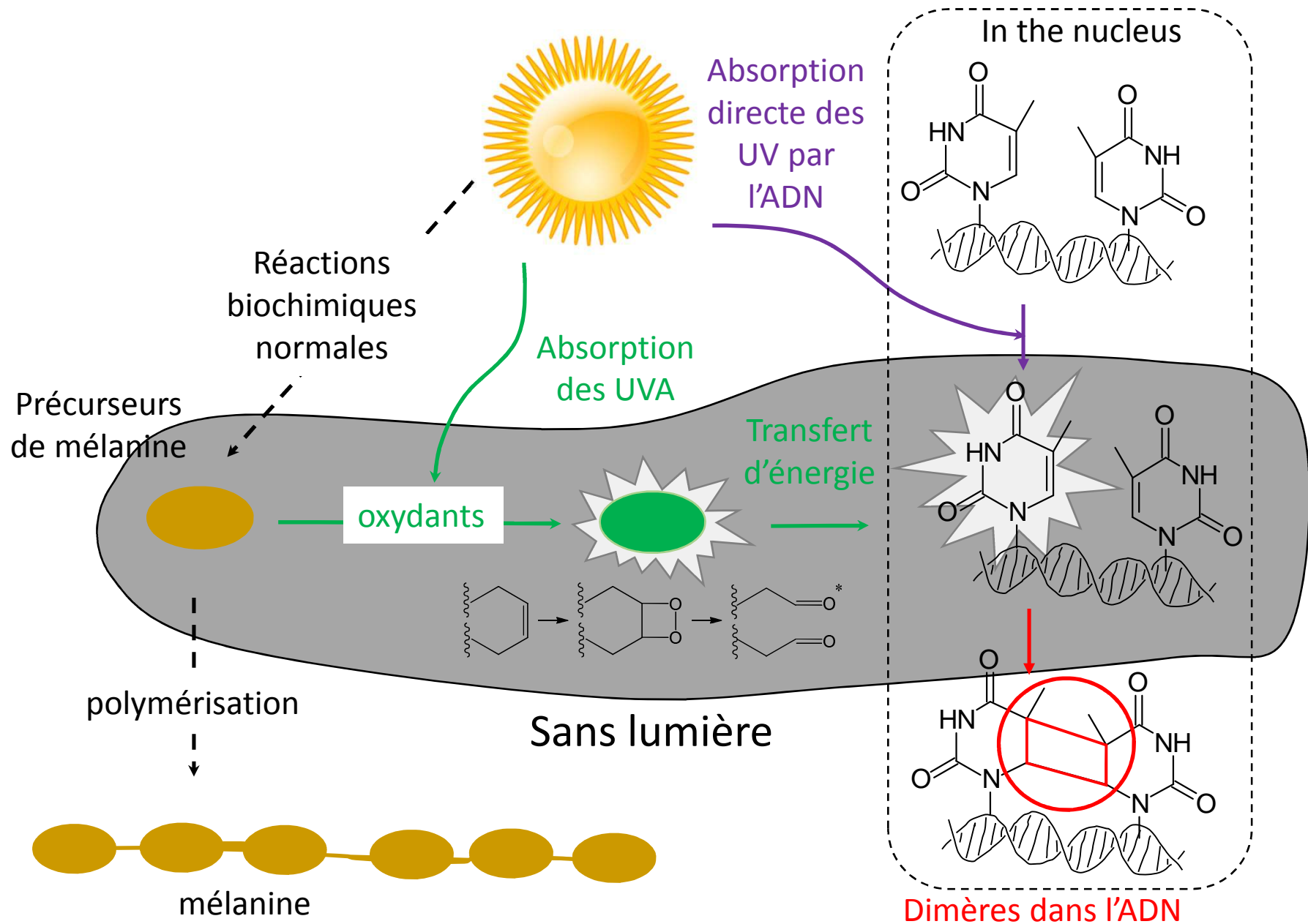


Mélanocytes de souris avec ou sans mélanine
(détection HPLC-spectrométrie de masse)

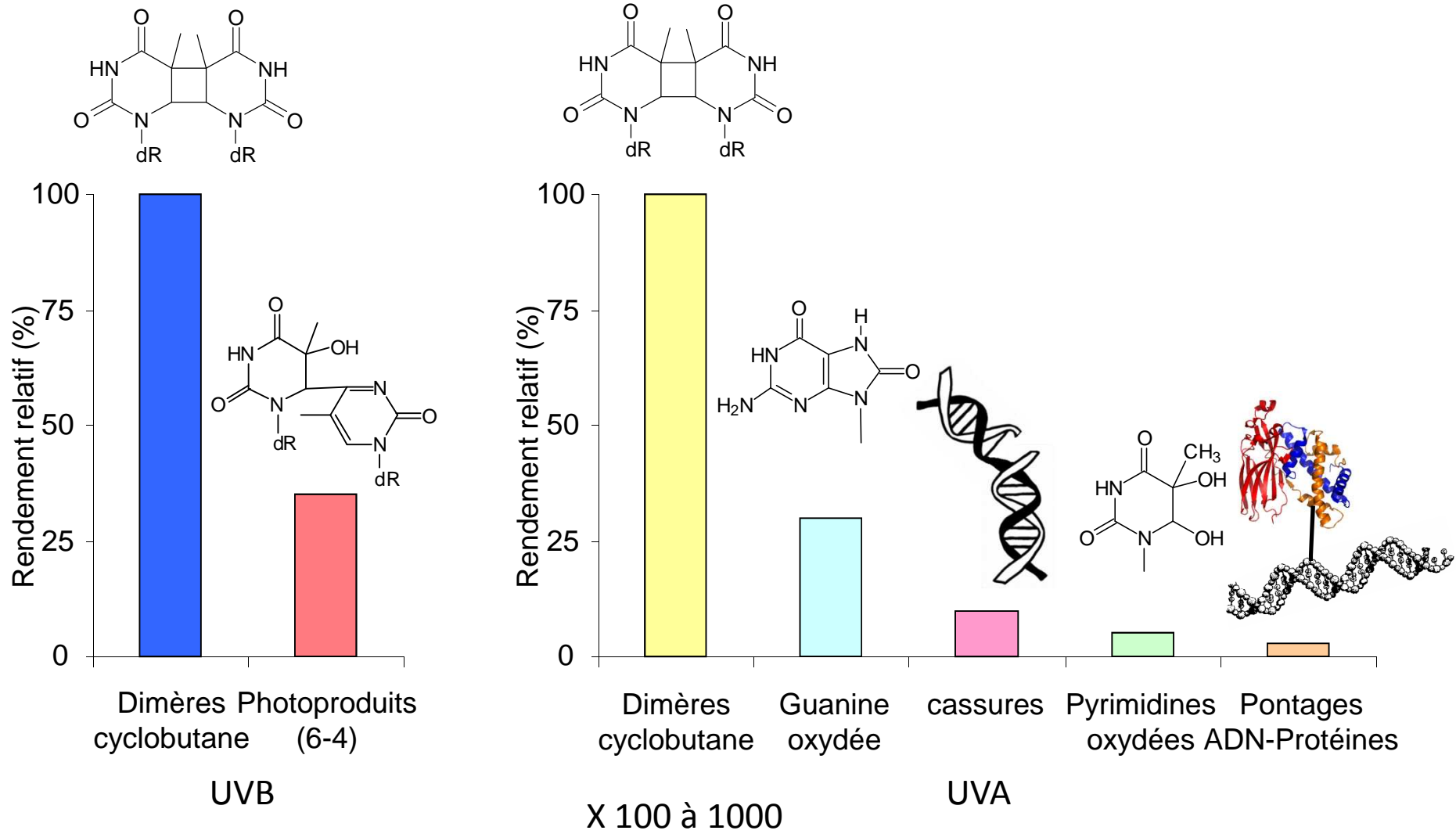


Le plus mutagène

Un mécanisme complexe

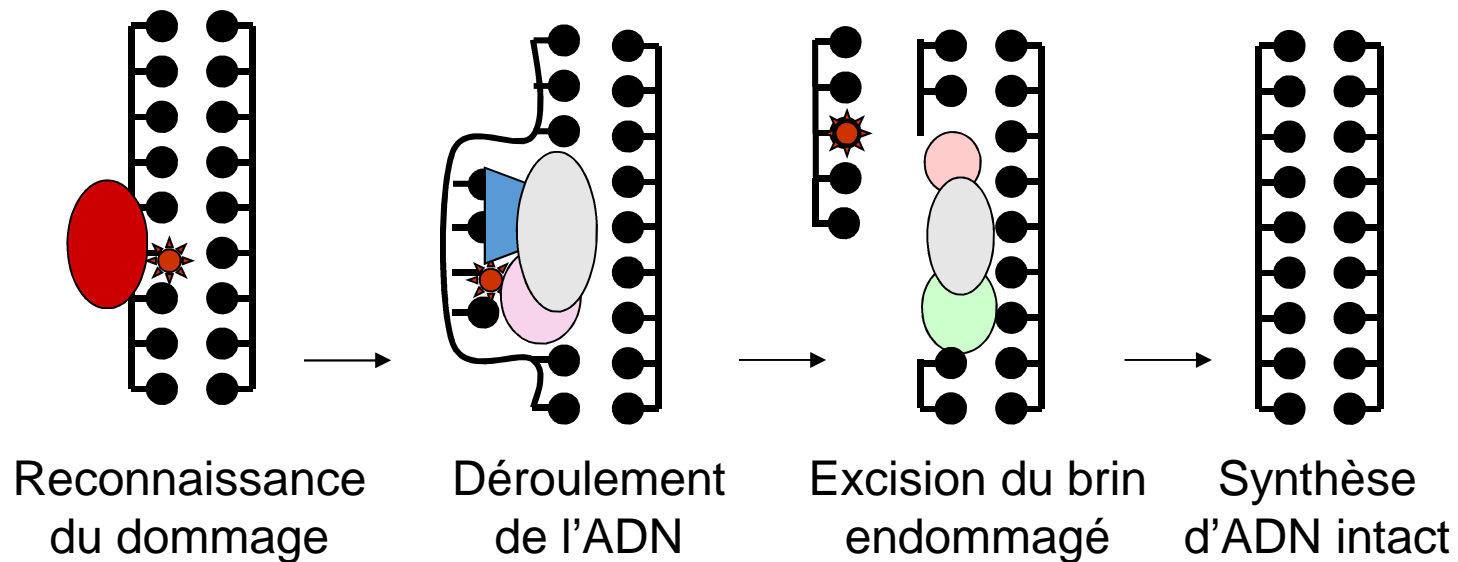


Bilan sur la nature des dommages de l'ADN après exposition aux UV



La réparation des dimères de pyrimidines

- Mécanisme de **Réparation par Excision de Nucléotides** (NER)
- Présente dans **tous les types cellulaires**
- Différentes protéines entre prokaryotes et eukaryotes mais **les mêmes fonctions**



Détection des dommages :

- par **arrêt de l'ARN polymérase** dans les **gènes transcrits**
- Par des **protéines spécifiques** dans le **reste du génome**



Le syndrome *Xeroderma Pigmentosum*

Déficiance en réparation de dimères = grande fréquence de cancer de la peau

Maladie génétique; décrite pour la première fois en 1870

Prévalence: 1 à 10^5 - 10^6

1000 fois plus de cancer de la peau que dans le population normale

Mort prématurée

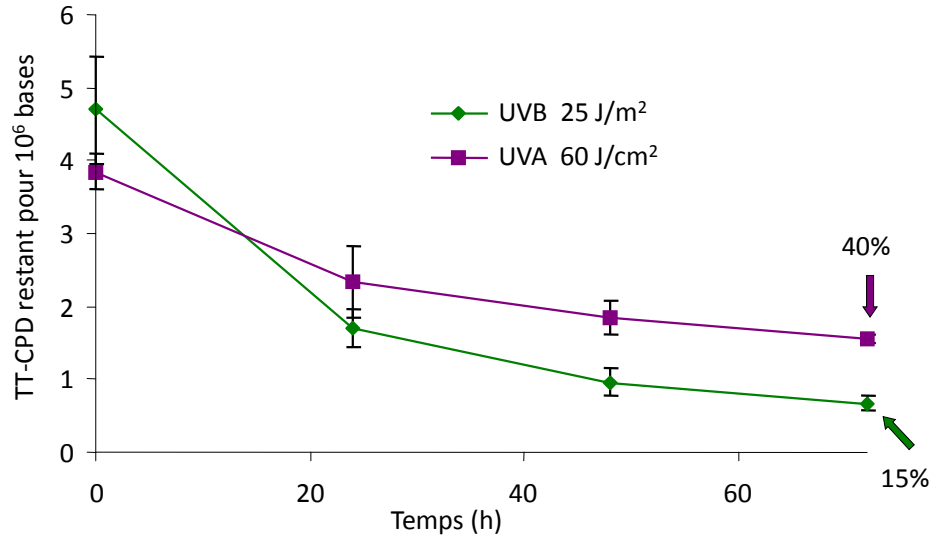
Associé avec des mutations de gènes de la réparation par excision de nucléotides



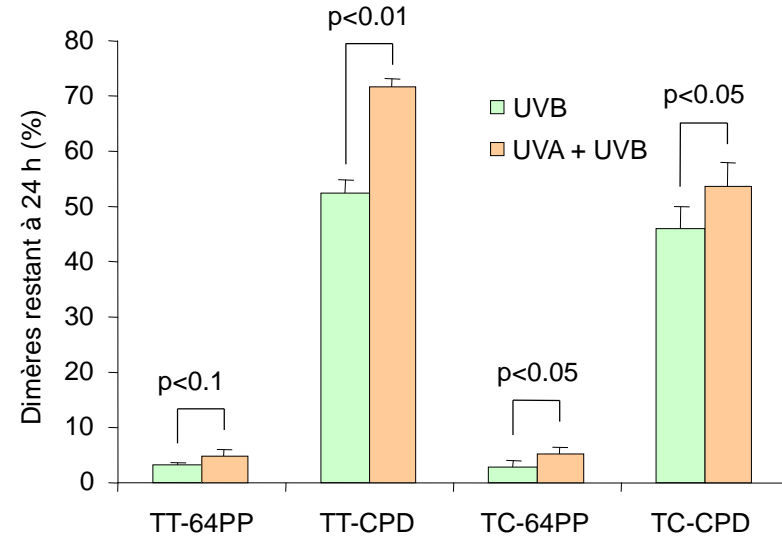
Un effet des UVA sur la réparation des dimères

Dans les kératinocytes humains en culture Courdavault et al. (2005) *DNA Repair* 4, 836

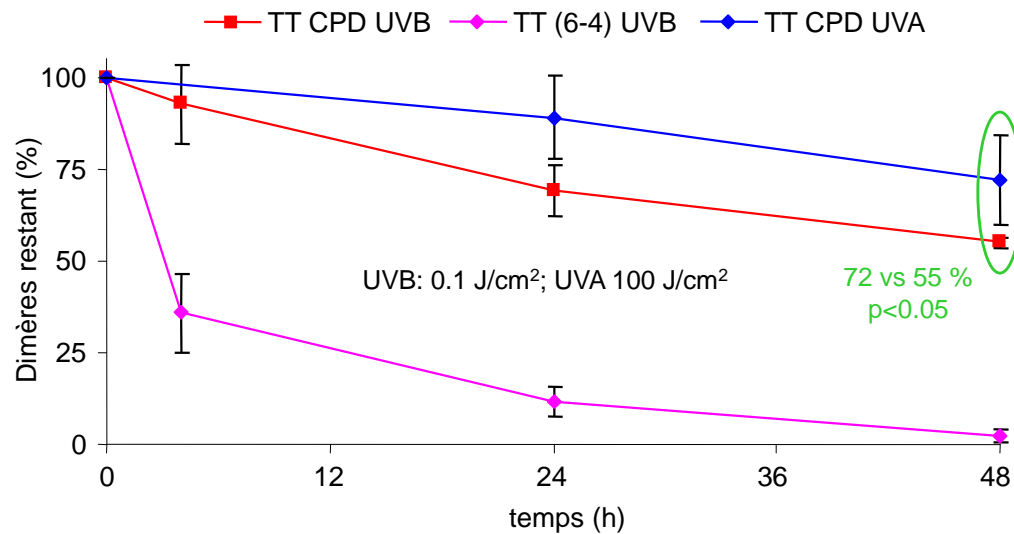
Cinétique après UVA ou UVB



Effet d'une pré-irradiation UVA

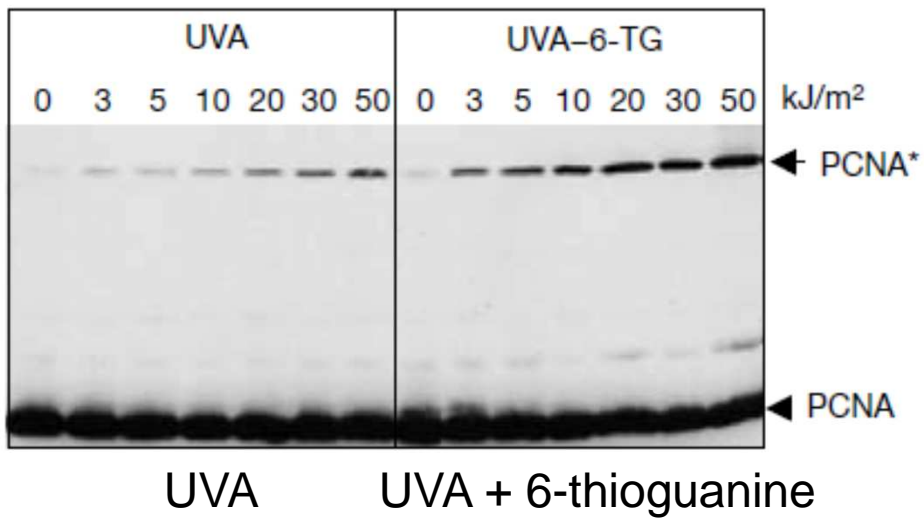


Cinétique de réparation dans la peau humaine
 Mouret et al. (2006) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103



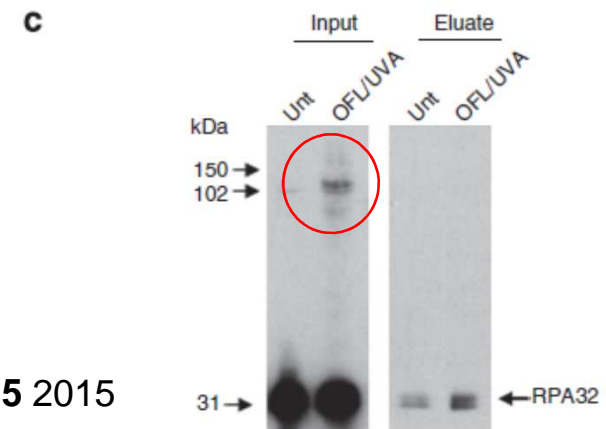
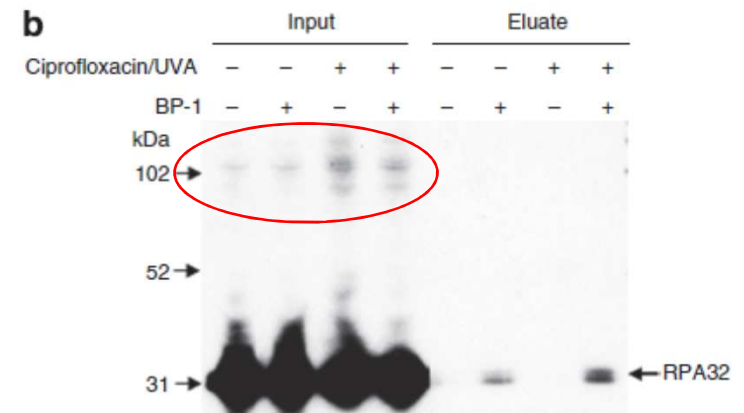
L'oxydation des protéines de réparation par les UVA

Pontage de PCNA



Montaner et al. *EMBO reports* **8** 2008

Oxydation de RPA



UVA + fluoroquinolones

Guyen et al. *J. Invest. Dermatol.* **135** 2015

Conclusions

- Un rôle majeur des **dimères de pyrimidines** dans le déclenchement des processus de cancérisation dus aux UV
- Les **UVB**, la portion la plus délétères du spectre solaire
- Les **UVA comme agents génotoxiques** et mutagènes : lésions oxydatives, formation de dimères directe et retardée; quelques % des dommages induits par la lumière solaire
- Un impact négatif des UVA sur la **réparation de l'ADN** (importance de la combinaison des effets UVA et UVB)
- Une nécessaire réévaluation à la hausse des **effets des UVA** : photoprotection adaptée, risques associés aux bronzage artificiel, ...
- **Autres effets délétères** des UV solaires : modifications épigénétiques, immunosuppression, vieillissement cutané, effets oculaires ...

Remerciements

Au laboratoire LAN

- Jean-Luc Ravanat
- Sylvie Sauvaigo

+ les doctorants et les post-docs



Les collaborations

- Evelyne Sage
Institut Curie d'Orsay
- Jean-Claude Béani et Marie-Thérèse Leccia
Dermatologie CHU-Grenoble
- Dimitra Markovitsi et Akos Banyasz
IRAMIS, CEA-Saclay
- Douglas Brash
Yale School of Medicine



Financements



Merci de votre attention !

