

PHOTOBIOLOGIE MOLÉCULAIRE

A.F. NIKKELS (1), C. PIÉRARD-FRANCHIMONT (2), G.E. PIÉRARD (3)

RÉSUMÉ : Les réactions photochimiques sont nombreuses dans la peau. Elles sont à l'origine d'espèces réactives de l'oxygène et d'autres altérations biochimiques. Selon leur nature, les composants moléculaires de la peau, altérés par ces mécanismes, peuvent être réparés à des degrés divers.

MOTS-CLÉS : Photochimie - Espèce réactive de l'oxygène - Ultra-violet

Les effets chimiques et biologiques de la lumière dépendent de son interaction avec des chromophores bien particuliers. Les plus importants absorbent les rayonnements ultraviolets (UV) (Tableau I). La quantité d'UV absorbée par la matière est en général proportionnelle à la concentration et au coefficient d'absorption du chromophore endogène qui a une bande d'absorption spécifique. Cependant, la réponse photobiologique peut aussi être déclenchée par un chromophore absorbant faiblement. Les réactions observées ne sont donc pas forcément initiées par le chromophore majeur du tissu.

L'interaction de photons avec leurs chromophores spécifiques se situe à l'échelle des atomes et des molécules. D'une manière générale, les électrons d'un atome gravitent sur des orbites ayant un niveau d'énergie différent selon leur distance par rapport au noyau. Lorsque les rotations axiales de paires d'électrons dans une orbitale sont appariées, l'atome possède un moment magnétique résultant nul. Cet état fondamental correspond à un état diamagnétique, ce qui est le cas pour la vaste majorité des biomolécules. Dans certains cas, les atomes à l'état fondamental ont des électrons qui ne sont pas appariés dans l'orbitale la plus externe. Les deux moments de rotation axiale sont parallèles et l'état résultant est appelé état triplet paramagnétique. La molécule d'oxygène et le monoxyde d'azote (NO) en sont les exemples importants en biologie.

RÉACTIONS PHOTOCHEMIQUES

Toute interaction spécifique entre des photons et la matière produit des états électroniques excités d'une durée de vie ultra-courte, mais de réactivité importante. Le passage de l'état fondamental vers un état excité s'appelle une transition électronique.

(1) Chargé de Recherche, (2) Chargé de Cours adjoint, Chef de Laboratoire, (3) Chargé de Cours, Chef de Service, CHU du Sart Tilman, Service de Dermatopathologie

MOLECULAR PHOTOBIOLOGY

SUMMARY : Photochemical reactions are numerous in the skin. They generate reactive oxygen species and other biochemical alterations as well. According to their nature, the molecular components of the skin which have been altered by these mechanisms can be repaired with various degrees of efficacy.

KEYWORDS : Photochemistry - Reactive oxygen species - Ultra-violet light

Quelques lois fondamentales gouvernent la photochimie. Les 5 principales sont:

- *Loi d'absorption de Grothus-Draper* : seules les radiations absorbées peuvent avoir un effet photochimique.

- *Loi de réciprocité de Bunsen-Roscoe* : quand le produit de l'intensité par le temps d'exposition est constant, l'effet photochimique est identique.

- *Loi d'absorption de Beer-Lambert* : la fraction de lumière incidente absorbée par une substance en solution est indépendante de l'intensité lumineuse initiale et augmente proportionnellement avec l'augmentation de la concentration de la substance.

- *Loi des quanta de Planck* : une radiation n'est pas continue, mais constituée de petites unités appelées "quanta".

- *Loi d'équivalence photochimique de Starck-Einstein* : quand une quantité de lumière est absorbée par une molécule absorbante, une molécule activée par la lumière est produite par une réaction primaire.

A) RÉACTION PHOTOCHEMIQUE PRIMAIRE

La réaction photochimique primaire est représentée par l'absorption de photons par des molé-

TABLEAU I : CHROMOPHORES MAJEURS DE LA PEAU ABSORBANT DES RAYONS UV

Biomolécule	Spectre d'absorption (nm)
ADN	220-320
Acide urocanique	250-360
Acides aminés aromatiques	240-320
Esters du rétinol	260-380
Mélanines	250-700
NADH, NADPH	260-400
Hémoglobine	360-450
Bilirubine	300-530
Flavines	225-510
Caroténoïdes	300-750
7-dihydrocholestérol	270-315

cules spécifiques appelées chromophores. Cette absorption photonique conduit, par modification du niveau d'énergie de certains électrons, à un état excité instable de type singulet par lequel un électron passe à une orbite supérieure sans modification de son sens de rotation axiale. La durée de vie d'un singulet est très courte, de l'ordre de la nanoseconde. Le transfert d'énergie des photons aux électrons est d'autant plus grand que la longueur d'onde de la lumière incidente est courte. Dans la nature, ce sont les ions négatifs H⁻ qui sont les absorbants principaux de la matière.

Le mouvement des électrons sur l'orbitale externe crée un champ électrique (e) oscillant. L'échange d'énergie avec le champ électrique de l'onde (E0) se fait par un phénomène de résonance uniquement lorsque les mouvements oscillants de e et E0 sont synchrones. Si l'énergie du photon est suffisante, un électron peut être chassé hors de l'atome qui est alors ionisé et devient un radical libre. Celui-ci est très réactif sur le plan chimique et se caractérise comme un atome comportant un électron non apparié, dit célibataire, sur son orbitale externe.

La désactivation de l'état singulet peut se faire par plusieurs voies distinctes incluant la dissociation de la molécule excitée, la conversion interne calorique et le retour intégral ou partiel vers l'état fondamental avec émission de radiations fluorescentes ou phosphorescentes. La désactivation peut également s'opérer par le passage d'un électron à un niveau d'énergie inférieur avec modification de son sens de rotation axiale. Cette situation qui correspond à un état triplet a une durée de vie qui va de quelques millisecondes à quelques secondes. La probabilité d'interactions secondaires avec des molécules voisines est donc plus grande qu'avec les atomes à l'état singulet. En d'autres termes, l'état triplet est moins énergétique, mais il peut néanmoins s'avérer plus réactif chimiquement que l'état singulet. Ce dernier est cependant impliqué dans des réactions photochimiques directes dans lesquelles seul le chromophore, ou une molécule qui lui est contiguë, est impliqué.

Deux états de même nature, singulets ou triplets, sont dits de même multiplicité. Les transitions électroniques entre états de multiplicité différente sont de faible probabilité. Les transitions intenses observées dans les spectres d'absorption des biomolécules correspondent donc à des transitions singulet-singulet. Le rendement quantique (Φ) est le rapport du nombre de molécules activées au nombre de photons absorbés. Les rendements quantiques de fluorescence (Φ_F) et de phosphorescence (Φ_P) sont les rap-

ports entre le nombre de photons émis et le nombre de photons absorbés.

L'effet des photons sur une molécule est plus complexe qu'il ne l'est sur un atome. En effet, des niveaux énergétiques autres que ceux des orbitales atomiques sont présents et associés aux mouvements de vibration et de rotation des atomes constitutifs de la molécule. Des photons absorbés peuvent ainsi modifier la distance d'équilibre entre les atomes jusqu'à entraîner la dissociation moléculaire.

Certaines réactions photochimiques survenant dans un être vivant ne sont pas suivies d'un effet photobiologique. Il existe ainsi des réactions photochimiques par lesquelles l'absorption photonique par le chromophore transforme celui-ci en un photoproduit stable, ou réalise des liaisons stables avec d'autres molécules. En revanche, certaines réactions photochimiques sont suivies d'un effet photobiologique.

B) RÉACTION PHOTOCHIMIQUE SECONDAIRE

Les réactions photochimiques secondaires peuvent être directes ou photosensibilisées. Dans la forme directe, le chromophore peut être impliqué seul dans l'état singulet aboutissant à son réarrangement moléculaire ou à sa dégradation. Il peut aussi interagir à l'état triplet ou singulet avec une autre molécule de son environnement proche. Dans les réactions de photosensibilisation, le chromophore, appelé photosensibilisateur au sens chimique du terme, sert dans son état triplet activé de transmetteur d'énergie ou de charge vers les molécules acceptrices voisines. Il est restitué de manière intégrale en bout de chaîne prêt pour être engagé dans un nouveau cycle réactif.

Trois principales classes de réactions photosensibilisées au sens chimique du terme sont identifiées. Il s'agit des photo-oxydations par les radicaux à l'état triplet, des photo-oxydations par l'oxygène singulet et des photoréactions n'impliquant pas l'oxygène. Les deux premières, nécessitant des interventions variées de l'oxygène moléculaire, sont distinguées en réactions photodynamiques de type I avec transfert de charge et de type II avec transfert d'énergie à l'oxygène.

STRESS OXYDANT ET ESPÈCES RÉACTIVES DE L'OXYGÈNE

A) FORMATION DES ESPÈCES RÉACTIVES DE L'OXYGÈNE

L'absorption de rayonnements UV, en particulier les UVA par certains chromophores sensibilisateurs endogènes (certains acides aminés,

bases puriques, acides gras polyinsaturés, phaeomélanine, porphyrines, flavines, flavoprotéines, quinones, NADH, NADPH, ptérides,...) se traduit par des réactions photodynamiques de type stress oxydant. Celui-ci est caractérisé par le transfert de charge (type I) ou d'énergie (type II) à l'oxygène qui prend alors une forme activée, de type singulet ou anion superoxyde. Il en résulte des réactions en chaîne catalysées en particulier par le fer, avec formation du radical hydroxyle (OH^\bullet), de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et de peroxydes organiques. Ces espèces réactives de l'oxygène (ERO), communément appelées radicaux libres, sont des petites molécules particulièrement agressives envers certains composants cellulaires. Le peroxyde d'hydrogène, l'anion superoxyde et le radical hydroxyle sont les ERO les plus importantes.

Réaction photodynamique de type I

Dans le mécanisme de type I, le photosensibilisateur à l'état excité triplet peut réagir avec un substrat donneur d'hydrogène ou d'électron. Ce transfert conduit aux espèces radicalaires qui réagissent alors avec l'oxygène moléculaire pour donner naissance aux produits d'oxydation. Le photosensibilisateur est le plus souvent régénéré par transfert d'électron du radical vers l'oxygène moléculaire pour former l'anion superoxyde.

Réaction photodynamique de type II

Dans le mécanisme de type II, le photosensibilisateur dans l'état excité triplet transfère l'énergie qu'il a acquise durant le processus d'absorption lumineuse vers l'oxygène moléculaire. Ce dernier se trouve alors lui-même excité à l'état singulet sans avoir absorbé un photon. Dans cette étape, le photosensibilisateur chimique est régénéré. L'oxygène singulet peut ensuite oxyder un substrat biologique.

B) CIBLES DES ESPÈCES RÉACTIVES DE L'OXYGÈNE

L'oxygène singulet, premier état excité de l'oxygène, et l'anion superoxyde, premier état de réduction mono-électronique de l'oxygène, sont parmi les ERO susceptibles d'être formées dans les premières étapes des processus de photosensibilisation chimique. L'oxygène singulet est une espèce oxydante plus réactive que l'anion radical superoxyde vis-à-vis des substrats biologiques. Le radical hydroperoxyde (HO_2^\bullet), forme protonée de l'anion radical superoxyde, est très réactif et pourrait jouer un rôle important dans des compartiments acides de la cellule. Le peroxyde d'hydrogène résultant de la dismutation spontanée ou enzymatiquement catalysée de l'oxygène est peu réactif. Néan-

moins, l'anion radical superoxyde et le peroxyde d'hydrogène sont reconnus comme jouant un rôle majeur dans le stress oxydant, par leur participation à la réaction de Fenton par laquelle l'ion ferreux réduit le peroxyde d'hydrogène et génère le radical hydroxyle qui est une ERO très réactive. L'anion superoxyde, dont la dismutation spontanée conduit au peroxyde d'hydrogène, peut être oxydé par les ions ferriques. Le peroxyde d'hydrogène et l'anion radicalaire superoxyde peuvent ainsi participer à un cycle catalytique nécessitant des ions métalliques et engendrer le radical hydroxyle.

Les ERO sont des actrices très importantes des réactions photo-induites particulièrement par les UVA. Ces derniers peuvent donc exercer une action cytotoxique et mutagène similaire à celle des UVB. Leurs principales cibles sont certains lipides insaturés, l'ADN et des protéines particulières. Les lipides insaturés des membranes cellulaires et lysosomiales sont touchés avec induction d'une peroxydation lipidique aboutissant à la rupture de membranes, à l'inactivation de récepteurs membranaires, à la libération d'aldéhydes cytotoxiques et mutagènes, et à la libération de médiateurs de l'inflammation à partir de l'acide arachidonique. L'ADN peut subir trois types de dommages oxydants correspondant à la rupture de chaînes, au pontage protéine-nucléobase et à l'oxydation de bases. Cette agression du matériel génétique se manifeste par des mutations, par une transmission anormale du message génétique et par une synthèse protéique perturbée. Les protéines riches en soufre sont les plus susceptibles d'être affectées par ce processus. L'oxydation d'acides aminés, comme le tryptophane, l'histidine, la cystéine et la méthionine, modifie leur structure et leur activité fonctionnelle.

Parmi les ERO, le monoxyde d'azote (NO) représente un effecteur biologique important produit par des NO-synthases (NOS). Les UV stimulent l'induction de NO-synthases constitutives et inductibles. La production de NO par les kératinocytes contribue aux effets visibles des UV sur la peau tant par ses propriétés vasodilatatrices que par la stimulation de la mélanogenèse.

C) DÉFENSES ANTI-OXYDANTES

La peau dispose heureusement de systèmes anti-oxydants endogènes. Les uns sont innés et présents en permanence, et d'autres sont inductibles. Ils sont représentés par des substances variées parfois appelées "quencheurs" incluant les vitamines C et E, le β -carotène, le glutathion et des oligo-éléments tels que le zinc et le sélénium. Les molécules anti-oxydantes "suicides" qui piègent les ERO sont elles-mêmes

détruites, mais certaines peuvent être heureusement régénérées par des processus physiologiques adaptés. Le piégeage des ions métalliques assure une protection contre l'activation des peroxydes. Les enzymes du type superoxyde-dismutase et thiorédoxine-réductase dismutent l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène. La catalase et la glutathion-peroxydase transforment ensuite le peroxyde d'hydrogène en eau. Les dégâts cellulaires apparaissent quand ces systèmes sont dépassés par une production massive d'ERO modifiant de manière majeure le potentiel redox intracellulaire. Cet équipement enzymatique est présent dans diverses cellules incluant les fibroblastes, les kératinocytes et les macrophages.

Les défenses anti-oxydantes ne sont pas nécessairement efficaces dans le cadre spécifique du stress oxydant induit par les UVA. En effet, les acteurs du stress photo-oxydant peuvent être générés dans des localisations cellulaires diverses et telles que certaines n'autorisent pas l'action efficace d'un système de défense spécifique. Le stress UVA peut, par ailleurs, altérer certains des systèmes de défense. Cependant, ils complètent potentiellement l'action des mélanines et des enzymes de réparation des dégâts directs UV induits à l'ADN, à laquelle s'ajoute la dégradation des protéines oxydées assurée par des enzymes protéolytiques et par le protéasome. Ces intervenants constituent la photoprotection naturelle limitant l'agressivité des UV sur les cibles biologiques de la peau.

L'essentiel des travaux expérimentaux sur le rôle des défenses antioxydantes a été réalisé avec des irradiations UVA aiguës et uniques. Les UVB n'exercent probablement qu'une contribution négligeable dans le déclenchement du stress oxydant dans des conditions naturelles d'exposition en modifiant les systèmes de défense ou de régulation. Cependant, les interactions entre ces radiations ne peuvent être négligées dans le contexte d'expositions répétées et chroniques.

Défense enzymatique

Les superoxydes dismutases constituent les premiers éléments de défense contre les ERO. Leur rôle est de dismuter l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène et oxygène. La réaction de Fenton est dès lors inactivée. Ces enzymes sont d'origine mitochondriale (métalloprotéase Mn) et cytosolique (métalloprotéase Cu-Zn).

Les catalases détruisent le peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène, bloquant ainsi la réaction de Fenton. Elles sont localisées dans les organites cellulaires tels que les peroxysomes.

Ces enzymes sont particulièrement sensibles à l'irradiation UVA. Elles ont donc un rôle négligeable dans la protection contre la peroxydation UVA-induite.

La glutathion peroxydase, enzyme sélénodépendante cytoplasmique, transforme également le peroxyde d'hydrogène en eau et interrompt la propagation radicalaire en réduisant les peroxydes lipidiques en produits inoffensifs. Le glutathion réduit est utilisé comme donneur d'hydrogène dans cette réaction. Le rapport entre glutathion réduit et glutathion oxydé est maintenu constant et élevé grâce à l'action de la glutathion réductase qui réduit le glutathion oxydé. Ainsi, sans être à proprement parler une enzyme de protection, la glutathion réductase est néanmoins un élément des systèmes de défense contre les ERO.

La glutathion S-transférase, localisée dans le réticulum endoplasmique, catalyse le transfert de groupes sulfures. La thiorédoxine réductase, présente dans les membranes des cellules épidermiques, jouerait un rôle protecteur important contre les ERO.

Défense par piègeurs anti-oxydants

Les propriétés anti-oxydantes de molécules biologiques sont dues à leur aptitude à intercepter ou désactiver des états excités ou radicalaires. Le piégeage des radicaux hydroxyles par des anti-oxydants apparaît cependant illusoire compte tenu de la très grande réactivité de ces radicaux (1, 2). Une interception efficace ne peut s'envisager que si ces radicaux sont spécifiquement produits à proximité des anti-oxydants.

La mélanine joue à la fois un rôle de filtre pour les UV et s'avère également être un piègeur d'ERO.

L' α -tocophérol ou vitamine E est très hydrophobe. Il est véhiculé en partie à la surface de la peau par le sébum. Il se fixe aux membranes cellulaires qu'il protège de la peroxydation lipidique. Il agit en cédant son hydrogène phénolique aux radicaux peroxydes formés, à l'anion superoxyde, au radical hydroxyle et à l'oxygène singulet. Le rôle essentiel de la vitamine E, en tant que donneur d'hydrogène (réducteur), réside dans son aptitude à interrompre les chaînes de propagation radicalaire dans les membranes. Cette action est particulièrement efficace contre le stress photo-oxydant induit par les UVA. Le radical tocophéryl ainsi formé est relativement stable et peu réactif. Il peut ensuite être régénéré en vitamine E active en étant réduit par un autre agent tel que la vitamine C.

L'acide ascorbique ou vitamine C réagit essentiellement avec l'anion superoxyde, le radical hydroxyle et la vitamine E radicalaire en se transformant en déhydroascorbate. Le glutathion permet de régénérer à son tour la vitamine C. Le rôle de la vitamine C est complexe dans la mesure où elle peut également présenter des propriétés pro-oxydantes, en réduisant les ions ferriques en ions ferreux et, donc, en contribuant à la production de radicaux par la réaction de Fenton.

Le sélénium est un métalloïde dont les propriétés chimiques se rapprochent de celles du soufre. Il est présent dans certaines protéines sous forme de sélénocystéine. Il constitue notamment le site actif de la glutathion peroxydase. Son rôle dans la destruction des radicaux libres est donc complémentaire de celui de la vitamine E.

Les caroténoïdes, localisés dans les environnements très lipophiles, contribuent à la désactivation physique de photosensibilisateurs excités triplets et de l'oxygène singulet ainsi qu'à l'inhibition de réactions radicalaires. Le β -carotène ou pro-vitamine A est ainsi un piègeur membranaire d'ERO au même titre que la vitamine E. Ce caroténoïde réduit l'oxygène singulet et inhibe la peroxydation lipidique. Dans la même famille des rétinoïdes, la trétinoïne et le rétinol exercent des actions pléiotropes parmi lesquelles un effet anti-oxydant.

Le glutathion réduit fait également partie des petites molécules interceptrices ou désactivatrices. Il peut réagir avec le radical hydroxyle et l'oxygène singulet. L'essentiel de son activité anti-oxydante réside dans son potentiel réducteur et donneur d'hydrogène. Il peut ainsi participer à la régénération des vitamines E et C en transférant un atome d'hydrogène à leurs radicaux respectifs. Il participe également à des réactions enzymatiques anti-oxydantes. Le rôle protecteur du glutathion pour contrer les effets des UV est effectif au niveau de différentes réponses biologiques.

D'autres piègeurs d'ERO sont l'acide urique, le glucose, la bilirubine, les ubiquinol et ubiquinones ainsi que les protéines à groupements thiols (SH) qui sont présentes en abondance dans l'épiderme.

De nombreux principes actifs végétaux, tels des flavonoïdes et des polyphénols contenus dans le thé vert et le Gynkgo biloba exercent une action antioxydante. D'autres ont la capacité de chélater le fer et d'inhiber ainsi la génération des radicaux hydroxyles les plus agressifs.

Défense par chélation des ions métalliques

Toute molécule susceptible de chélater les ions métalliques conduit à une protection contre les ERO. Cette séquestration est assurée par des protéines spécifiques de transport et de stockage telles que la céruloplasmine et la métallothionine pour le cuivre et la transferrine et la ferritine pour le fer. Dans les cellules, la ferritine assure le stockage du fer. Le stockage du cuivre, du zinc et d'autres métaux lourds est assuré par la métallothionine. L'hème oxygénase, enzyme impliquée dans le catabolisme de l'hème et des hémoprotéines en biliverdine et bilirubine, est à la fois constitutive et inductible par un stress oxydant par le peroxyde d'hydrogène ou par un stress UVA. Cette enzyme n'a pas d'effet anti-oxydant direct. Cependant, en dégradant les hèmes, elle libère du fer libre dans la cellule. Ceci influence la régulation post-transcriptionnelle de la synthèse de ferritine. L'accroissement de ferritine intracytoplasmique qui en résulte assure la chélation du fer et diminue ainsi le stress oxydant.

CHROMOPHORES AMBIVALENTS

Certains chromophores exercent un effet ambivalent, à la fois photoprotecteur et photosensibilisant en relation avec un spectre d'absorption électromagnétique situé en partie dans le rayonnement UV. Il s'agit essentiellement des mélanines et de l'acide urocanique. La couche cornée et la pilosité jouent un rôle photoprotecteur par les capacités de réflexion, de diffraction et d'absorption photonique de la kératine.

A) MÉLANINES

Il existe deux variétés principales de mélanines correspondant, d'une part, à l'eumélanine et, d'autre part, à la phaeomélanine et aux trichochromes qui lui sont apparentés. Les mélanines ont plusieurs fonctions distinctes comportant la détermination du phénotype, l'organisation embryonnaire neurologique, le processus de l'audition et l'absorption de produits chimiques toxiques. Les mélanines présentes dans la peau et les cheveux sont des polymères mixtes intermédiaires entre l'eumélanine et la phaeomélanine.

La synthèse des mélanines s'effectue dans le mélanocyte à l'intérieur d'organelles cytoplasmiques spécifiques, les mélanosomes. Elle s'effectue avec un tronc commun de synthèse pour les deux types de mélanines sous la dépendance d'une enzyme-clé, la tyrosinase. La voie métabolique diverge ensuite avec l'intervention principale de la dopachrome oxydase pour l'eumélanine et de la γ -glutamyl transpeptidase pour

la phaeomélanine. L'orientation vers l'une ou l'autre des synthèses est déterminée par la teneur en composés soufrés dans le mélanocyte, particulièrement en glutathion qui, par clivage par la glutathion réductase, donne naissance à la cystéine. D'autres enzymes telles que les "tyrosinase related proteins" (TRP) I et II jouent également un rôle très important dans la régulation des étapes terminales de la mélanogenèse.

Eumélanine

L'eumélanine noire ou brun foncé ne contient pas de soufre et correspond à des polymères d'unités de dihydroxy-indole (DHI) et d'acide dihydroxy-indole carboxylique (DHICA). L'eumélanine concentrée dans les eumélanosomes est photostable et photoprotectrice par un mécanisme triple. Ses propriétés consistent principalement en un effet écran par absorption des UV et du visible et restitution d'énergie sous forme de chaleur. Un effet de diffraction du rayonnement incident survient lorsque sa longueur d'onde est voisine de la taille des mélanosomes. Il existe de plus un effet éponge pour ERO par transfert d'électrons. La concentration en ERO après irradiation est inférieure dans la peau riche en eumélanine.

Phaeomélanine

La phaeomélanine et les trichochromes apparentés sont jaunes à brun orangé et se caractérisent par l'incorporation de cystéine survenant après le tronc initial commun de la synthèse des deux types de mélanines, qui comprend deux oxydations enzymatiques successives de la tyrosine en dopa, puis dopaquinone.

Les propriétés photoprotectrices de la phaeomélanine sont modestes. En revanche, ce composé et son précurseur, la 5-S-cystéinyl-dopa, sont photochimiquement instables après irradiations UV de longueurs d'onde supérieures à 300 nm. Les processus photochimiques initiaux impliquent la production d'ERO par photolyse. Les radicaux de type cystéinyl, en présence d'ADN, forment des complexes par activation par les UV. Des ruptures simple brin de l'ADN sont induites, avec toutes les conséquences possibles dans le domaine de la cancérogenèse. Ainsi, la phaeomélanine, en captant des photons et en restituant l'énergie, se comporte sur le plan photochimique comme un photosensibilisateur et, donc, comme un agresseur cellulaire. Parmi les facteurs de la photocarcinogenèse cutanée, la proportion entre les deux sous-groupes formant les mélanines joue certainement un rôle capital tant au niveau de l'initiation que de la promotion.

B) ACIDE UROCANIQUE

L'acide trans-urocanique est présent dans la couche cornée et est excrété par la sueur. Il est un des produits de dégradation de la filaggrine et résulte de la désamination de l'histidine sous l'influence de l'histidinase. Il absorbe les UVB au-delà de 290 nm. L'absorbance atteint 50 % du rayonnement à 307 nm. La photo-activation se fait par cis-trans-isomérisation. Son rôle effectif de filtre solaire est incertain par l'ambivalence des réactions photochimiques subséquentes à une absorption lumineuse.

ACIDE DÉSOXYRIBONUCLÉIQUE

A) DÉGRADATION DE L'ADN

La cible la plus importante des UV est l'acide désoxyribonucléique (ADN) nucléaire car ses dommages vont retentir sur la division cellulaire et sur l'ensemble des synthèses cellulaires. Ils peuvent être aussi à l'origine de mutations ou conduire à la mort cellulaire. L'acide ribonucléique (ARN) ne semble pas être une cible directe, mais les altérations notées par irradiation sont probablement secondaires aux dommages de l'ADN.

L'ADN mitochondrial est également une cible des UV. Dans les cellules humaines, on trouve quelques centaines à plusieurs milliers de mitochondries, chacune avec deux à dix copies du génome. Le génome humain mitochondrial contient plus de 16.000 paires de bases qui codent pour treize protéines essentielles de la chaîne de transport d'électrons. Les dommages et les mutations induits altèrent la production d'énergie de la cellule et entraînent des pathologies dont certaines sont relatives au vieillissement.

Les ruptures des chaînes nucléotidiques de l'ADN sont rarement induites par les UV alors qu'elles sont les habituelles conséquences des radiations ionisantes. Elles peuvent cependant survenir en présence de chromophores photosensibilisants tels que les benzophénones. L'ADN peut ainsi être le premier maillon de réponse aux UV. La nature des processus physico-chimiques qui sont à l'origine de ces modifications dépend de la longueur d'onde des photons incidents. En effet, les UVB sont directement absorbés par l'ADN dans lequel ils provoquent des altérations génétiques spécifiques, telles que des dimères de pyrimidines ou des mutations ponctuelles, plus particulièrement des transitions CC vers TT. Les UVA ne sont pas absorbés par l'ADN. Ils agissent par l'intermédiaire des chromophores endogènes produisant

des ERO qui induisent à leur tour des ruptures de brins. Ces lésions de l'ADN induites par les UV peuvent être mises en évidence par le "test des comètes". Placé dans un champ électrique, l'ADN fragmenté des noyaux irradiés migre et forme une traînée qui ressemble à une queue de comète. Quand l'ADN est reconstruit, la traînée ne se forme plus et au bout de quelques heures le noyau reprend sa forme circulaire initiale. Ce test permet d'évaluer les capacités cellulaires de réparation des dommages dûs aux UV.

Photoproduits créés par les UVB

L'action du rayonnement UVB sur l'ADN est largement dominée par la formation de photoproduits dimériques entre deux bases adjacentes. Ces dommages affectent essentiellement les pyrimidines et, plus particulièrement, la thymine. Il peut s'agir de réactions d'hydratation par addition d'un hydrogène ou d'un groupe hydroxyle à la double liaison 5-6 des pyrimidines. Une réduction de la double liaison 5-6 de la thymine peut également survenir, de même qu'une oxydation du groupe méthyle de la thymine. Le photoproduit majeur est un dimère de type cyclobutane entre deux bases pyrimidiques adjacentes d'une même chaîne de l'ADN. Il en résulte une torsion de la molécule pouvant interférer avec le processus de transcription de l'ADN à travers lequel l'activité métabolique générale de la cellule est contrôlée.

Les bases pyrimidiques excitées peuvent réagir avec des molécules variées, elles-mêmes excitées par l'irradiation pour former des adduits covalents. Un exemple de photo-addition est fourni par les psoralènes.

Les séquences d'ADN comportant deux cytosines adjacentes représentent également des sites préférentiels de mutation après exposition à la lumière UVB. L'apparition de mutations en tandem CC † TT est même considérée comme une signature de ce rayonnement.

La photochimie UVB des purines est quantitativement moins importante que celle des pyrimidines. Une première classe de produits implique l'adénine qui est susceptible de se dimériser ou de réagir avec une thymine adjacente sous l'effet du rayonnement UV lointain. Un second aspect est l'oxydation de la guanine.

Photosensibilisation par les UVA

Les cibles principales de la photosensibilisation de type I dans l'ADN sont les bases. Ces dernières sont converties par une réaction d'oxydation en leur cation radical. Ce dernier peut ensuite réagir avec l'eau ou se déprotoner. La base nucléique la plus sensible aux processus de

photosensibilisation de type I est la guanine. De plus, un transfert efficace des charges positives des cations radicaux des autres bases est possible vers les résidus guanine dans l'ADN double brin. Le cation radical de la guanine peut se déprotoner en un radical neutre oxydant. Ce dernier réagit lentement avec l'oxygène pour produire une base modifiée de type imidazolone qui s'hydrolyse en une molécule de type oxazolone. De manière compétitive, le cation radical de la guanine peut s'hydrater pour ensuite être réduit ou oxydé, donnant naissance à des dérivés distincts.

Les pyrimidines sont peu dégradées par l'arrachement photo-induit d'un électron dans l'ADN. La voie majoritaire de dégradation est commune à la thymine et à la cytosine. Elle implique l'hydratation du cation radical en des radicaux neutres qui sont convertis à leur tour, après une réaction en plusieurs étapes avec l'oxygène, en diols de thymine ou de cytosine, ainsi qu'en d'autres produits de transposition et de fragmentation du cycle pyrimidique.

Au cours d'une photosensibilisation de type II, l'oxygène singulet est produit et réagit spécifiquement avec la base guanine pour former un endoperoxyde. La réduction de ce dernier aboutit à la formation de 8-oxodésoxyguanosine dont les produits d'oxydation par l'oxygène singulet conduisent à des coupures de la chaîne nucléotidique de l'ADN.

B) RÉPARATION DE L'ADN

Les réparations de l'ADN sont des mécanismes de dernier recours visant à corriger les dégâts photo-induits qui ont échappé aux moyens de photoprotection. Les systèmes de réparation sont génétiquement déterminés. Les systèmes de réparation de l'ADN se distinguent par deux aspects principaux qui sont leur fidélité d'action et leur capacité de corriger des lésions plus ou moins complexes.

Les cellules humaines répondent à des lésions de l'ADN selon deux mécanismes distincts. Lorsque les dommages sont minimes, le cycle cellulaire est stoppé le temps de la réparation des lésions. Lorsque les dommages sont irréparables, la cellule rentre dans un programme de mort par apoptose. La protéine p53 est un acteur essentiel impliqué dans les deux mécanismes et joue donc un rôle prépondérant dans la carcinogénèse. Elle est surexprimée après une irradiation UV, démontrant son rôle dans les réparations cellulaires. Cependant, le gène p53 possède lui-même de nombreux sites sensibles aux mutations induites par les UV. Lorsqu'il est lui-même muté et mal réparé, le gène p53 ne

peut plus jouer son rôle protecteur, et l'initiation de la cancérogenèse est possible. Le système SOS intervient quand l'ADN est très endommagé. Il ne fait que sauvegarder la viabilité de la cellule en attendant de l'intervention des autres mécanismes.

Les individus normaux présentent une grande variabilité dans leur réponse aux dommages induits par le rayonnement UV. Cette situation est probablement due en partie à leurs capacités différentes de protection et de réparation vis-à-vis des effets du Soleil. Il en résulte le concept du "patrimoine Soleil" individuel qu'il convient de respecter. Toute anomalie dans le fonctionnement des systèmes de réparation de l'ADN aboutit à des réponses exagérées aux expositions à des agents génotoxiques incluant la phototoxicité aiguë, les altérations mutationnelles et la photo-induction de cancers multiples de la peau chez des patients atteints de *xeroderma pigmentosum*.

Systèmes fidèles de réparation de l'ADN

-Réparation de mésappariements de bases

Malgré les erreurs des ADN polymérases au cours de la réplication normale, les cellules assurent une fidélité presque parfaite de la duplication de l'ADN génomique. Ce sont les enzymes de la réparation des mésappariements qui corrigent les erreurs de réplication. Ils reconnaissent les paires de bases mal appariées et identifient le brin parental de l'ADN qui porte le code original à conserver. Ils excisent ensuite la séquence de l'ADN qui englobe la ou les bases mal appariée(s) et la structure de l'ADN double brin normal est reconstituée à l'aide d'une ADN polymérase et d'une ADN ligase.

-Réparation par excision de bases

La réparation multi-enzymatique par excision des bases est très importante, car elle est capable de prendre en charge la plupart des dommages spontanés de l'ADN, ainsi que ceux découlant du stress oxydant induit par les radiations UV et ionisantes et par certains agents photodynamiques. Ainsi donc, ce système de réparation supprime efficacement la mutagenèse spontanée et celle induite par des photo- ou radio-oxydants.

La première étape du processus implique l'action d'ADN glycosylases qui sont au nombre de huit dans les cellules humaines. Les dommages oxydants, tels que la 8-oxoguanine, la thymine glycol et la cytosine glycol peuvent ainsi être éliminés.

Les cassures simple brin dues à l'attaque de résidus de désoxyribose de l'ADN par des ERO sont reconnues par une protéine nucléaire, la poly (ADP ribose) polymérase (PARP), qui pro-

tège les extrémités des brins d'ADN contre toute possibilité de recombinaison. Elle n'intervient donc pas directement dans le processus de réparation par excision de bases, mais elle interagit avec la protéine XRCC1 qui intervient dans la progression de la polymérase β et la religation des brins par l'ADN ligase III. L'inhibition de la PARP conduit à une hypersensibilité des cellules aux agents qui induisent des cassures simple brin de l'ADN. En général, les processus d'excision de bases et de réparation de ces cassures sont très efficaces et rapides. En revanche, l'absence de certaines fonctions glycosylasiques est associée à certaines maladies humaines héréditaires comme les syndromes de Bloom et de Werner caractérisés par un taux élevé de cassures chromosomiques.

L'absence de glycosylases fonctionnelles est souvent liée à une mutation après un stress oxydant et est probablement associée à un risque de carcinogenèse. Les dommages oxydants induits dans l'ADN et non réparés jouent sans doute également un rôle dans le processus de vieillissement précoce. Les spectres de mutations trouvés dans les cellules de mammifères, après exposition aux rayons solaires, montrent la présence de lésions oxydantes non réparées par excision de base, ce qui semble spécifique de l'action des UVA.

-Réparation par excision de nucléotides

Le système de réparation de l'ADN par excision de nucléotides joue un rôle central dans les cellules en raison de son large spectre d'action. En effet, il représente la principale défense contre les effets génotoxiques des UV. Il opère très efficacement sur une grande variété de lésions encombrantes modifiant la structure hélicoïdale de l'ADN et il prend en charge la plupart des lésions induites par les cancérigènes chimiques tels que les hydrocarbures polycycliques, les amines aromatiques, l'aflatoxine B1, et les agents thérapeutiques comme la mitomycine C, le cisplatine et les psoralènes. Dans une moindre mesure, il est également impliqué dans l'élimination de lésions plus subtiles comme les dommages oxydants et d'alkylation.

Le système d'excision de nucléotides est un processus de réparation comportant cinq étapes successives impliquant 20 à 30 protéines. Le dommage de l'ADN, tel qu'un dimère de pyrimidine photo-induit, est reconnu par un complexe protéinique. Les brins de la double hélice d'ADN sont ensuite écartés au niveau de la lésion et une double incision de chaque côté du site lésé est effectuée par une endonucléase. L'excision de la lésion est opérée par une exonu-

cléase. Le comblement de la brèche simple brin ainsi créée est effectué par l'ADN polymérase δ ou ϵ en présence de deux activateurs qui sont le facteur de réplication C (RFC) et l'antigène nucléaire de prolifération cellulaire (PCNA). La réparation de la lésion est finalisée par l'action de l'ADN ligase I qui reconstitue la continuité du brin d'ADN.

Lorsque l'ARN polymérase II est bloquée par la présence de lésions au cours de la transcription d'ARNm de gènes actifs, les cellules normales sont capables de coupler la réparation par excision de nucléotides à la transcription dans un processus appelé "transcription coupled repair" (TCR) afin de pouvoir réparer de préférence les gènes et les brins d'ADN activement transcrits et, ensuite, les régions de l'ADN non transcrites par le processus normal opérant sur tout le génome communément appelé "global genome repair" (GGR).

L'activité du gène p53 suppresseur de tumeurs est en partie associée au système de réparation par excision de nucléotides. L'induction du gène p53 par les rayons UV et γ , et par d'autres agents génotoxiques, conduit en fait à l'induction d'une sous-unité protéique de la ribonucléotide réductase (p53R2) chargée de fournir les nucléotides nécessaires à la réparation de l'ADN. Cette aide à la réparation pourrait expliquer le rôle du gène p53 en tant que gardien du génome et suppresseur de tumeurs chez les mammifères.

-Réparation de cassures double brin par recombinaison homologue

Des cassures double brin sont induites indirectement lors de la réplication et de la réparation de l'ADN après exposition aux UVA et UVB ou à des agents photosensibilisants comme les psoralènes. Elles sont également produites directement par les radiations ionisantes et certains agents radiomimétiques et antitumoraux. Ce sont des lésions redoutables au regard des conséquences génotoxiques à court et long termes. Non réparées, elles sont létales. Leur réparation est le plus souvent non fidèle, car elle emprunte la voie enzymatique de religation non homologue. La réparation par recombinaison homologue est la voie fidèle qui préserve l'information génétique. Ce système de réparation a lieu quand les extrémités des brins d'ADN cassés sont protégées par la protéine hRad52. Après nettoyage des coupures double brin par un complexe exonucléolytique, la protéine hRad52 se lie avec ce complexe sur le site endommagé, attire un duplex d'ADN homologue double brin et déclenche ainsi la recombinaison homologue. Celle-ci consiste en une liaison du double brin

homologue intact avec les extrémités 3' des brins d'ADN cassé, une synthèse à partir de la matrice intacte, une ligation des brins et une séparation des brins reliés pour reformer un ADN double brin intact.

Systèmes non fidèles de réparation de l'ADN.

-Réparation des cassures double brin par religation non homologue

L'ADN des cellules contient de nombreuses séquences répétées ne codant pas pour des gènes. Comme il est difficile de trouver des séquences homologues aux séquences endommagées, les cellules utilisent de préférence le système de religation non homologue des brins cassés plutôt que le système de réparation par recombinaison homologue. La réparation par religation non homologue nécessite l'intervention de plusieurs enzymes et complexes protéiques. Après une rupture double brin de l'ADN, les extrémités simple brin sont façonnées pour la synthèse d'ADN par une polymérase. Ensuite, une ligation des brins est effectuée rétablissant ainsi l'intégrité fonctionnelle de l'ADN. Cependant, le façonnage et l'introduction de petites délétions font perdre ou modifier une partie de l'information génétique, ce qui rend cette voie de réparation peu fidèle.

L'implication relative des deux mécanismes de réparation des cassures double brin est apparemment conditionnée par les quantités respectives des protéines Rad52 (recombinaison homologue) et Ku (réparation non homologue) impliquées dans la reconnaissance des cassures double brin et la protection des extrémités des brins d'ADN. De plus, après irradiation UV, les protéines ATR (protéines kinases de la famille ATM) et Chk1 (contrôlant une étape du cycle cellulaire) activent par phosphorylation la protéine p53 qui contrôle l'arrêt du cycle cellulaire. Ces protéines font ainsi partie d'un grand réseau cellulaire de régulation et de signalisation des dommages à réparer dans l'ADN.

-Synthèse translésionnelle

Une synthèse d'ADN ignorant la présence d'une lésion risque de comporter de nombreuses erreurs. L'exactitude d'une réplication ou d'une synthèse en présence de dommages dépend du type de lésion et de la nature de la polymérase. Parmi les lésions photo-induites par les UVA et UVB, les dimères de pyrimidines gardent une certaine capacité de codage. En revanche, d'autres altérations comme les photoproduits 6-4 ou les sites abasiques ne constituent pas de matrices acceptables et donnent lieu à des synthèses erronées et à des mutations.

Le processus de la synthèse translésionnelle ne représente pas une activité de réparation, mais il permet la survie des cellules en tolérant certains dommages dans l'ADN. Il joue un rôle essentiel lorsqu'une ADN polymérase répllicative rencontre des difficultés pour la poursuite de la synthèse d'un brin d'ADN altéré par une précédente erreur de réplication, du fait d'un contexte défavorable au niveau de la séquence ou de la présence d'une lésion. Dans ces conditions, cette ADN polymérase répllicative est temporairement remplacée par une autre polymérase très spécialisée capable d'insérer quelques nucléotides jusqu'à ce que la matrice devienne à nouveau acceptable pour la poursuite normale de la synthèse d'ADN par la polymérase répllicative initiale.

Ainsi donc, il existe des relais pour les divers systèmes de réparation. Après une heure d'exposition au Soleil sur la plage, environ 18.000 dimères de pyrimidine sont photo-induits dans chaque cellule de la peau. La vaste majorité de ces lésions est prise en charge par le mécanisme d'excision de nucléotides, mais quelques-unes sont soumises à la synthèse translésionnelle qui peut suivre une voie relativement fidèle (polymérase h) ou très peu fidèle (polymérase z). Selon le type de lésions et de voies enzymatiques empruntées, le taux d'erreurs et les conséquences génotoxiques à long terme sont très différents. Le risque d'initier des processus de mutagenèse et de carcinogenèse est grand.

-Réparation post-répllicative

La réparation post-répllicative est un mécanisme d'urgence. Quand une cellule en division est lésée par les UV, la partie endommagée de l'ADN n'est pas directement réparée mais court-circuitée pendant la réplication. Ce type de réparation peut fonctionner avec des erreurs.

c) PHOTOPROTECTION DE L'ADN PAR INFRAROUGES

La lumière solaire étant polychromatique, l'effet global de son action sur la peau humaine est le résultat de l'effet individuel de chaque longueur d'onde, mais aussi des interactions entre ces différents effets. Les UVB endommagent les cellules surtout par l'induction de dimères de thymine et de 6-4-photoproduits sur l'ADN. Les cellules ont développé au cours de l'évolution différents systèmes pour réparer ces dommages, aussi bien que ceux induits au niveau des acides nucléiques par le stress oxydant des UVA. La capacité de réparation de l'ADN peut bénéficier d'une protection induite par les IR.

La protéine anti-oncogène p53 est en fait liée à la réparation de l'ADN endommagé par les

UV. Elle intervient directement par une activité exonucléotidique ou indirectement par induction de la transcription de certaines enzymes participant à la réparation de l'ADN. Elle peut également augmenter l'efficacité des polymérases a et b dans leur activité réparatrice. De plus, p53 participe activement à des cascades de signaux déclenchés par des agents extérieurs qui mènent à des effets biologiques liés à la réparation, comme l'activation des points de contrôle du cycle cellulaire et de l'apoptose.

La protection induite par les IR est une réponse adaptative qui dépend à la fois de mécanismes constitutifs et inductibles. Elle apparaît rapidement après une seule exposition aux IR et s'accroît ensuite pendant 1 à 2 jours, pour rapidement disparaître par après. Il existe de plus un effet cumulatif qui se marque par un accroissement de la protection avec le nombre d'expositions aux IR.

Les systèmes cellulaires de réparation inductibles sont déclenchés *a posteriori* par les dommages infligés à l'ADN, ce qui souvent ne laisse pas aux cellules assez de temps pour la réparation des dommages avant la réplication semi-conservative de l'ADN. Ce manque de préparation provoque l'apoptose, ou une sénescence prématurée par arrêt définitif du cycle cellulaire, voire même une réplication qui ne respecte pas l'intégrité de l'information originale. Dans ce cas, la production de mutations peut mener à des transformations malignes. Les IR n'endommagent pas l'ADN, mais tout se passe comme si une mémoire cellulaire atavique reconnaissait qu'une exposition aux IR était suivie d'une agression par les UV. Ce scénario est, en fait, la séquence naturelle d'irradiation des cellules puisqu'au lever du jour la lumière solaire arrivant au niveau de la surface de la Terre contient proportionnellement peu d'UV par rapport aux IR. La cellule actionnerait préventivement le système de réparation IR pour faire face aux effets des UV solaires. Quand, quelques heures plus tard, la quantité d'UV augmente considérablement, les cellules seraient plus aptes à réparer les dommages induits par ces longueurs d'onde.

PROTÉINES PHOTOLABILES

Les protéines contenant une grande quantité d'acides aminés aromatiques (tryptophane, tyrosine, histidine, cystéine) sont particulièrement susceptibles à une oxydation photo-induite. L'absorption de photons modifie la structure tertiaire par rupture de ponts disulfures. Leur fonc-

tion biologique est altérée, particulièrement lorsqu'il s'agit d'une enzyme.

Le tryptophane et la tyrosine contenus dans la majorité des protéines absorbent des UV au delà de 290 nm. Certains chromophores sont des protéines de type cofacteur, tels que la riboflavine, le NADH et la tétrahydrobioptérine. Bien que les spectres d'absorption du tryptophane et de la tyrosine se situent dans les UVB, des cofacteurs et des acides aminés en liaison interchaîne peuvent absorber des rayons UVA et UVB. La photo-excitation de la tyrosine par des rayons UVB est peu efficace pour induire des altérations photochimiques. Lorsque la tyrosine est photo-activée, un électron est transféré vers une cystéine, ce qui peut conduire à une inactivation de la protéine par atteinte des liaisons disulfures. Dans l'élastine et le collagène, des acides aminés en liaison interchaîne, absorbent des UV autour de 300 nm et se comportent ainsi comme des chromophores. La desmosine et l'isodesmosine, formées par quatre lysines entre deux chaînes sont des exemples de chromophores qui absorbent des UV de plus de 290 nm. Une irradiation chronique de la peau avec des rayons UVA peut augmenter la fraction du collagène insoluble et ainsi contribuer au photo-vieillessement. Dans l'élastose actinique, l'irradiation par des UVA modifie l'élastine par accumulation de N-(carboxy-méthyl) lysine qui est un produit de glycoxydation induit par atteinte oxydante de certaines protéines tissulaires.

PROTÉINES DE STRESS

Les UV induisent un système de défense médié par les protéines de stress appelées protéines de choc thermique (HSP, heat shock proteins). Ce groupe hétérogène de protéines d'une taille comprise entre 10 et 110 kD peut agir comme des chaperons moléculaires en formant des complexes transitoires avec des protéines durant leur synthèse et leur agencement moléculaire, ce qui les protège d'un repliement inadéquat ou d'une dégradation irréversible. Elles peuvent aussi jouer le rôle d'enzymes participant aux voies métaboliques affectées par l'exposition au stress.

Trois familles de protéines de choc thermique sont particulièrement impliquées dans la réponse aux UV. Les HSP70 dont l'HSP72 exprimée constitutivement dans les kératinocytes, les HSP27 impliquées dans la différenciation kératinocytaire et les HSP32 ou hème oxygénases (HO-1 et HO-2). Les UVB induisent également une stimulation de la production de

HSP72, sans cependant développer une résistance particulière à une deuxième irradiation.

RÉCEPTEURS MEMBRANAIRES ET FACTEURS DE TRANSCRIPTION

Divers récepteurs aux facteurs de croissance, et notamment des récepteurs à l'EGF (epidermal growth factor), peuvent être photo-activés. Il en résulte une phosphorylation des récepteurs sur leurs résidus tyrosine, ce qui déclenche l'activation en chaîne de différentes cascades de kinases. Ce système complexe met en jeu une famille particulière de MAP kinases (mitogen-activated protein kinases) qui sont les "proline directed protein kinases". Ce groupe d'enzymes comprend, entre autres, ERK 1,2 (extracellular signal regulated kinase) et deux SAPK (stress-activated protein kinase), JNK1 (Jun N-terminal kinase) et p38/RK (reactivating kinase). L'activation finale de ces kinases entraîne la phosphorylation de nombreux substrats tels que la phospholipase A2 et des facteurs de transcription. Les PKC (protéine kinase C), qui jouent un rôle majeur dans les phénomènes de différenciation et de prolifération cellulaires, sont également une cible privilégiée du stress. Certaines sont impliquées dans l'apoptose des kératinocytes avec des protéases de la famille des caspases.

Les trois grandes familles de facteurs de transcription sensibles aux irradiations UV sont AP-1, AP-2 et NFκB. AP-1 (activator protein-1) est composé par les membres des familles Fos (c-fos) et Jun (c-jun, junB) et est impliqué dans la croissance, la différenciation et le stress cellulaires. C-fos est activé par ERK 1,2 et c-jun par JNK. AP-2 est impliqué dans la différenciation et le développement des cellules des crêtes neurales et des kératinocytes épidermiques. Il est fortement exprimé par les kératinocytes humains normaux et serait associé à la synthèse de la kératine 14. La protéine NFκB est exprimée dans de nombreux tissus et composée d'homo ou d'hétérodimères de protéines de la famille Rel. En temps normal, NFκB est confiné dans le cytoplasme sous forme latente, associé à son inhibiteur IκB. Sous l'influence d'un stress, il est transloqué dans le noyau où il active ses gènes cibles. IEX-1 est un autre élément de réponse immédiate aux UV.

LIPIDES MEMBRANAIRES

A) PHOTO-OXYDATION

L'énergie des UVB et des UVA est peu absorbée par les lipides cellulaires. Cependant, une oxydation de lipides non saturés survient après

exposition à des UV par des processus de photosensibilisation. L'absorption directe des UVB est possible par des lipides contenant des liaisons doubles non conjuguées, telles que le 7-dihydrocholestérol. Les UVA induisent la peroxydation de lipides membranaires. Des molécules photosensibilisantes sont probablement localisées près des membranes cellulaires, ce qui expliquerait que les ERO ne réagissent qu'après une courte période de diffusion. Après une première photooxydation dans la membrane, des oxydations secondaires apparaissent dans le cytoplasme et le noyau, lorsque la charge cellulaire en antioxydants a été réduite par d'autres facteurs. L'oxydation du glutathion et de l'acide ascorbique par des lipides oxydés sont parmi les altérations cellulaires secondaires survenant après irradiation. Le déséquilibre de ces molécules anti-oxydantes et le taux élevé de lipides oxydés résultant de l'irradiation UV peuvent agir comme signal activant d'autres processus biologiques. Ceux-ci comprennent des signes généraux de stress oxydant tels que l'activation de protéines du choc thermique, de l'hème-oxygénase, de la ferritine ainsi que d'autres molécules pouvant aider à neutraliser la présence d'ERO. L'atteinte cellulaire globale est également possible lorsque les réactions photochimiques près de la membrane cellulaire activent des facteurs de transcription cytosoliques qui contrôlent des gènes répondant aux UV. Ainsi, l'activation de la Src-tyrosine-kinase a lieu dans les quelques minutes qui suivent l'irradiation UV et elle est rapidement suivie de l'activation du gène de stress NF- κ B. L'induction de la synthèse d'acide arachidonique à partir de phospholipides membranaires est le résultat d'une stimulation de la phospholipase A2 par des UVA, et de la phospholipase C par des UVB. Cette photo-oxydation des membranes est un facteur important du photovieillissement.

B) PHOTOSYNTHÈSE DE LA VITAMINE D

Vitamine D végétale et animale

Le terme vitamine D, sans autre précision, désigne indifféremment le cholécalciférol (vitamine D3) et l'ergocalciférol (vitamine D2). Les vitamines D2 végétale et D3 animale ont des structures chimiques voisines, ne différant que d'un radical méthyle et d'une double liaison. Cette analogie importante explique que leurs propriétés physiologiques et leurs caractéristiques métaboliques sont identiques. Ces composés inactifs sont tous deux convertis par le foie puis par le rein en calcitriol ayant une activité hormonale stéroïdienne de première importance. La photosynthèse de vitamine D se produit chez

les végétaux pour lesquels une provitamine, l'ergostérol, est convertie en vitamine D2 sous l'action des UVB.

Chez l'animal, la photosynthèse cutanée de vitamine D constitue une étape essentielle de l'évolution des vertébrés. La formation de vitamine D3 issue de la transformation du cholestérol en provitamine D3, puis en prévitamine D3 suivie de l'isomérisation de cette dernière, est en effet une réaction dépendante de la température. Elle est généralement lente à température ambiante dans les régions tempérées et froides. Ainsi, les premiers vertébrés terrestres poikilothermes étaient exposés à un risque important d'ostéomalacie carencielle, qui a pu entraver leur évolution. Cette influence de la température extérieure sur le statut vitaminique D a pu être démontrée chez l'iguane.

Vitamine D humaine

L'action antirachitique est due à la photolyse épidermique du 7-déhydrocholestérol (provitamine D3) en cholécalciférol liposoluble (prévitamine D3) sous l'effet des UVB de 290 à 320 nm, avec hydrolyse subséquente par le foie et le rein pour donner le calcitriol (vitamine D3, 1,25-dihydroxycholécalciférol) qui est le métabolite le plus actif. Le processus photobiologique initiateur est sous l'influence exclusive des UVB comme en témoignent la possibilité de survenue d'un rachitisme chez des enfants exposés au Soleil derrière une vitre et l'absence d'augmentation des taux de provitamine D3 après photothérapie de l'ictère néonatal réalisée avec des rampes de lumière visible.

L'exposition des zones de peau habituellement découvertes 10 à 15 minutes, 2 à 3 fois par semaine l'été, suffit à assurer les besoins en vitamine D. Cependant, sous les climats tempérés, la synthèse photo-induite est insuffisante pour couvrir les besoins en vitamine D d'un enfant toute l'année et la supplémentation est nécessaire et obligatoire. Chez le sujet âgé qui vit trop renfermé dans l'habitat, le taux de vitamine D3 est diminué. Il peut être normalisé et l'hyperparathyroïdisme secondaire peut être corrigé par photothérapie UVB. Enfin, cette synthèse est freinée par l'abondance de mélanine dans l'épiderme, ce qui explique la fréquence du rachitisme et le risque d'ostéomalacie dans les populations de race noire vivant dans les régions peu ensoleillées. Les vêtements, les vitrages et les crèmes solaires sont autant d'écrans interposés entre le Soleil et la provitamine D3. La saison, la latitude et l'heure de la journée conditionnent bien évidemment la synthèse de vitamine D.

Le vieillissement s'accompagne d'une diminution importante de concentration épidermique en 7-déhydrocholestérol, qui altère la capacité de synthèse de vitamine D. La concentration de vitamine D3 circulante augmente quatre fois moins après une même exposition solaire chez des sujets âgés que chez des adultes jeunes.

Les apports nutritionnels en vitamine D recommandés chez l'adulte (200 UI/jour), augmentent au cours de la grossesse, de la lactation (400 UI), de même que chez l'enfant (300 UI avant 6 mois et 400 UI par la suite) et chez la personne âgée. En réalité, l'apport alimentaire de l'adulte est presque toujours inférieur à ces recommandations, ne dépassant pas 100 UI/jour, et il n'aurait qu'un rôle mineur dans le statut vitaminique D. La synthèse endogène est donc indispensable pour couvrir environ 80 % des besoins. L'huile de foie de morue et les bains de Soleil étaient les moyens ancestraux pour combattre le rachitisme.

A côté de son rôle fondamental dans le contrôle de l'homéostasie calcique et de la minéralisation osseuse, la vitamine D a d'autres actions biologiques. L'expression de récepteurs de la vitamine D, de même qu'une réponse biologique à l'action du calcitriol sont présentes dans une grande variété de cellules et tissus, comprenant le tissu hématopoïétique, le système immunitaire, l'épiderme et certaines cellules malignes (3). De plus, à partir de la pré-vitamine D3 et le la vitamine D3, l'exposition chronique au Soleil peut produire plusieurs photo-isomères. Deux de ces produits, le tachystérol et la 5,6-trans-vitamine D3 pourraient être impliqués dans la régulation de la prolifération de l'épiderme.

Les différentes activités de la vitamine D ont offert des perspectives thérapeutiques nouvelles s'appuyant sur le développement d'analogues non hypercalcémiant du calcitriol. L'efficacité du calcitriol, du calcipotriol et du tacalcitol a été démontrée dans le psoriasis et pourrait résulter de l'effet antiprolifératif et/ou immunosuppresseur de ces molécules. Certains cancers pourraient être traités par ces analogues. D'autre part, l'impact des effets immunosuppresseurs et immunomodulateurs de ces dérivés pourrait être mis à profit dans le traitement de certaines hémopathies malignes et maladies auto-immunes, ainsi qu'après transplantation d'organes.

VITAMINES PHOTOLABILES

Bien que le 7-déhydrocholestérol soit transformé en prévitamine D3 sous l'action des UVB, une exposition prolongée au Soleil n'est pas associée à une production excessive de vitamine D. En effet, la prévitamine D3 et la vitamine D3 sont photolabiles, et le rayonnement solaire les convertit rapidement par photolyse en dérivés lumistérol et tachystérol ayant peu d'effet sur l'homéostasie calcique. Les autres dérivés superstérol 1, suprasstérol 2, et 5,6 transvitamine D3, n'exercent aucun effet biologique en ce domaine. Lors d'une exposition aux UVB, la quantité de prévitamine D3 atteint donc rapidement un plateau qui correspond à environ 15 % du contenu cutané en 7-déhydrocholestérol. Cette photolyse est un facteur limitant la production de vitamine D3, et prévenant une éventuelle intoxication par la vitamine D, telle qu'elle peut survenir lors d'un surdosage médicamenteux.

La vitamine A, ses précurseurs et les vitamines C et E sont également photolabiles. Elles sont dégradées par des réactions photodynamiques de type I au contact d'ERO à l'état triplet, et par des réactions photodynamiques de type II au contact de l'oxygène singulet.

RÉFÉRENCES

1. Piérard GE, Piérard-Franchimont C.— Les antiradicaux face au stress oxydatif pourvoyeur des irréparables outrages du temps. *Medi-Sphère*, 1999, **94**, 30-31.
2. Uhoda I, Piérard-Franchimont C, Piérard GE.— Empêcher la vie de vieillir : un rêve de jeunesse en traquant les radicaux libres dans la peau. *Medi-Sphère*, 2002, **166**, 15-18.
3. Muller K, Bendtzen K.— 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ as a natural regulator of human immune functions. *J Invest Dermatol Symp Proc*, 1996, **1**, 68-71.

Les demandes de tirés à part sont à adresser au Dr. A.F. Nikkels, Service de Dermatopathologie, CHU du Sart Tilman, 4000 Liège, E-mail : af.nikkels@chu.ulg.ac.be