

Séance dédiée : « Se débarrasser du mélanome »

CONFÉRENCE

Ultraviolets A et dommages de l'ADN : leur place dans la cancérogenèse cutanée

MOTS-CLÉS : ADN/EFFETS DES RADIATIONS. RAYONS ULTRAVIOLETS. MÉLANOME

Ultraviolet A-induced DNA damage: role in skin cancer

KEY-WORDS (Index medicus): DNA/RADIATION EFFECTS. ULTRAVIOLET RAYS. MELANOMA

Jean-Claude BEANI *

L'auteur déclare de ne pas avoir de lien d'intérêt en relation avec le contenu de cet article.

RÉSUMÉ

Les cancers de la peau sont les plus fréquents de tous les cancers chez l'homme et le rôle des expositions solaires dans leur genèse est admis. Les Ultraviolets B (UVB) (300-320 nanomètres), ont longtemps été tenus pour principaux responsables des dommages cutanés à l'origine de ces cancers et la nocivité des UVA (320-400 nm) a été négligée. Les mécanismes intimes de la photocancérogenèse restent mal élucidés mais les lésions UV-induites à l'ADN apparaissent comme un événement initiateur majeur. Les dimères cyclobutane pyrimidine (CPDs) et les photoproduits pyrimidine (6-4) (6-4PPs) sont les principales lésions dimériques produites par les UVB ; à l'inverse les effets génotoxiques des UVA ont été longtemps considérés comme relevant de dommages oxydatifs avec, comme principale lésion oxydative, la base oxydée, 8-oxo-7,8dihydroguanine (8-oxoGua). Cepen-

* Membre correspondant de l'Académie nationale de médecine — Clinique universitaire de Dermato vénéréologie, allergologie et photobiologie CHU de Grenoble ; Unité Mixte de Recherche CNRS/Université Joseph Fourier UMR 5525

*Tirés à part : Professeur Jean-Claude BEANI
Article reçu le 15 février 2013, accepté le 10 juin 2013*

dant les nouvelles techniques particulièrement performantes d'analyse des lésions de l'ADN (test des comètes et surtout HPLC-MS/MS), ont définitivement confirmé que l'irradiation UVA conduit majoritairement à la formation de CPDs, quel que soit le modèle cellulaire expérimental choisi ainsi que dans la peau humaine totale ; le principal d'entre eux étant le CPD-TT. L'hypothèse d'un processus photochimique direct pour la formation des CPDs par les UVA est aujourd'hui favorisée. La structure multicouche de l'épiderme protège efficacement contre la formation des lésions dipyrimidiques dans la peau totale par les UVB mais offre une protection modeste contre les dommages occasionnés par les UVA. Enfin l'efficacité de la réparation des dommages est diminuée après une irradiation UVA. Principale lésion, mal réparée, formée dans l'ADN par les UVA dans la peau totale qui est de plus perméable aux UVA, les CPDs ont un fort pouvoir mutagène parfaitement documenté et les études récentes de mutagenicité impliquent clairement les CPDs, plutôt que la 8-Oxo-Gua, comme photoproduits promutagéniques induits par les UVA. Les mutations induites, connues sous le terme de signature UV sont caractérisées par des transitions C vers T ou CC vers TT au niveau des séquences dipyrimidiniques. Elles concernent les gènes p53, patched 1 et SMO pour les carcinomes et les gènes PTEN, RAC1, PPP6C, et STK19, PPP6C pour les mélanomes des zones découvertes. Dans le mélanocyte les UVA induisent aussi majoritairement des CPDs et en quantité égale à celle produite dans le kératinocyte, mettant en évidence que la mélanine ne prévient pas la formation des CPDs dans le mélanocyte ; à l'inverse sous UVA la 8-OxoGua est formée en bien plus grande quantité que dans le kératinocyte. Ainsi sous irradiation UVA les lésions oxydatives contribuent plus largement aux dommages de l'ADN dans le mélanocyte que dans le kératinocyte ; à l'état basal les lésions oxydatives sont déjà plus importantes dans le mélanocyte. Le photosensibilisant impliqué pourrait être la mélanine elle-même. Cette hypothèse est renforcée par une étude récente qui, sur un modèle murin, met en évidence que l'induction de mélanome sous UVA requiert la présence de mélanine dans les mélanocytes et est associé à des lésions oxydatives de l'ADN et qu'à l'inverse les UVB initient les mélanomes par une voie indépendante de la pigmentation et par des dommages directs. Ainsi deux voies dépendant de la longueur d'onde sont mises en évidence pour l'induction de mélanomes avec un rôle inattendu pour la mélanine. La pigmentation constitutive est très efficace pour prévenir des dommages UV-induits et ainsi, une corrélation claire peut être mise en évidence entre la quantité de CPD TT produite tant par les UVB que les UVA et la dose érythémateux minimale et le phototype. La mélanine apparaît de fait comme une molécule à deux visages, protectrice particulièrement pour la peau foncée quand sa synthèse est achevée et quand les mélanosomes sont dans le kératinocyte avec une configuration géométrique protégeant le noyau mais aussi prooxydante sous irradiation quand elle n'est que partiellement polymérisée. À l'inverse les expositions répétées de la peau de volontaire dans le but de provoquer un bronzage montrent que le bronzage acquis par les UVB est peu protecteur contre les dommages à l'ADN provoqués par les expositions ultérieures alors que le bronzage UVA ne l'est pas du tout et ce alors même que l'induction du bronzage par l'une ou l'autre des radiations provoquent des dommages à l'ADN. Toutes ces données récentes mettent en exergue le rôle potentiel que peuvent jouer les UVA dans la cancérogenèse cutanée ; ils confortent les études épidémiologiques qui montrent l'augmentation du risque de mélanome chez les utilisateurs de lampe à bronzer particulièrement les jeunes femmes. La décision de l'agence internationale pour la recherche sur le cancer de classer les UVA et les dispositifs à bronzer comme agent cancérigène de groupe I ainsi que l'avis émis par l'Académie nationale de médecine sur les cabines à bronzer apparaissent tout à fait justifiés. L'usage de ces cabines devrait être définitivement interdit.

SUMMARY

Skin cancer is the most common human malignancy, and sunlight exposure is known to play a role in its genesis. Ultraviolet B (UVB) (300-320 nm) has long been considered responsible for the skin damage underlying these cancers, whereas the toxicity of UVA (320-400 nm) has been largely overlooked. The intimate mechanisms of photocarcinogenicity remain poorly understood, but UV-induced DNA damage appears to be a major initiating event. Cyclobutane pyrimidine dimers (CPDs) and pyrimidine (6-4) photoproducts (6-4PPs) are the main dimeric lesions induced by UVB, whereas the genotoxic effects of UVA have long been attributed to oxidative damage, the main lesion being the oxidized base 8-oxo-7,8dihydroguanine (8-oxoGua). However, powerful new techniques for analyzing DNA damage (the Comet assay, and especially HPLC-MS/MS) have demonstrated that UVA irradiation mainly triggers the formation of CPDs, especially CPD-TT, both in cell models and in total human skin. A direct photochemical process is currently thought to account for CPD induction by UVA. The multilayer structure of the epidermis protects against UVB-induced dipyrimidine lesions in total skin but offers only weak protection against UVA. In addition, repair efficiency is undermined by UVA. CPDs, the main DNA lesions induced by UVA in total skin (which is more permeable to UVA), are inefficiently repaired. CPDs have strong mutagenic potential, and recent studies clearly show that CPDs, rather than 8-Oxo-Gua, are the main mutagenic photoproducts induced by UVA. The UV signature of induced mutations is characterized by transitions from C to T or CC to TT in dipyrimidine sequences. These mutations target the p53, patched 1 and SMO genes in carcinomas, and the PTEN, RAC1, PPP6C, STK19 and PPP6C genes in melanomas of exposed skin. UVA also mainly induces CPDs in melanocytes, in amounts similar to those observed in keratinocytes, demonstrating that melanin does not prevent CPD formation. In contrast, UVA induces far more abundant 8-oxo-Gua production in melanocytes than in keratinocytes. Thus, under UVA irradiation, oxidative stress contributes more to DNA damage in melanocytes than in keratinocytes. In addition, baseline oxidative damage (in the absence of UVA) is already higher in melanocytes. The photosensitizer may be melanin itself. This is supported by a recent study based on a murine model, in which melanoma induction was shown to require both UVA and the presence of melanin in melanocytes, and is associated with oxidative damage to DNA. Conversely, UVB was found to initiate melanoma through a direct, pigment-independent pathway. Thus, two wavelength-dependent pathways can induce melanoma, with melanin playing an unexpected role. Constitutive pigmentation is very effective in preventing UV-induced damage, and a clear correlation can thus be found between, on the one hand, the amount of CPD TT produced by both UVB and UVA and, on the other hand, the minimum erythematous dose and the phototype. Melanin is thus a two-faceted molecule, protecting the skin when its synthesis is complete and when melanosomes take on their nucleus-protective geometric configuration in keratinocytes, but having a pro-oxidant action when only partially polymerized and exposed to UV. Repeated exposure of volunteer skin shows that a tan induced by UVB provides little protection against DNA damage caused by subsequent exposure, while tanning with UVA provides no protection at all. Yet both UVB and UVA provoke DNA damage. All these recent data highlight the potential role of UVA in skin carcinogenesis, and reinforce epidemiological studies showing an increased risk of melanoma among users of tanning lamps, particularly young women. The decision by the International Agency for Research on Cancer to classify UVA and tanning devices as group 1 carcinogens, and the opinion issued by the French National Academy of Medicine on tanning booths, therefore appear to be fully justified. The use of tanning salons should be permanently banned.

Les cancers de la peau sont les plus fréquents de toutes les pathologies cancéreuses chez l'homme. Leur incidence a considérablement augmenté ces dernières décennies, en particulier le mélanome est le cancer, avec celui du poumon, dont le taux d'incidence augmente le plus rapidement [1].

Le rôle des ultraviolets (UV) dans la genèse des carcinomes cutanés est clairement établi sur des arguments cliniques, épidémiologiques et expérimentaux. Dans le déterminisme des mélanomes, le rôle des expositions solaires est moins directement évident car la distribution topographique des mélanomes est différente de celles des carcinomes basocellulaires (CBC) et des carcinomes épidermoïdes (CE) et ne correspond pas aux zones cutanées du corps les plus exposées au soleil. Ainsi dans le mélanome le nombre total d'expositions importe moins que la nature de celles-ci ; les expositions intenses intermittentes, particulièrement dans l'enfance semblent être les plus délétères ; d'autre part des facteurs de susceptibilité génétique semblent aussi avoir un rôle déterminant [2].

Les UVB (300-320 nanomètres), principales radiations impliquées dans l'érythème solaire, ont longtemps été tenus pour responsables de tous les dommages cutanés UV-induits et en particulier leur rôle dans la photocarcinogénèse est connu depuis longtemps à la suite de travaux expérimentaux sur la souris [3].

Les UVA représentent la portion la moins énergétique des UV solaires et sont moins biologiquement actifs que les UVB, cependant les UVA sont 20 à 100 fois plus abondants que les UVB dans la lumière solaire, selon l'heure du jour, la latitude et l'altitude.

Les études les plus récentes, conduites tant *in vitro* que chez l'animal et chez l'homme ont montré qu'en fait les UVA (320-400 nm) et plus particulièrement les plus longs d'entre eux qualifiés d'UVA1 (340-400 nm) pouvaient être à l'origine des mêmes effets moléculaires, cellulaires et biologiques que les UVB. Les UVA se sont ainsi avérés comme étant mutagènes en cultures cellulaires [4, 5] et tumorigènes chez la souris [6, 7] ainsi qu'inducteurs de mélanomes sur d'autres modèles animaux [8].

Les mécanismes intimes de la photocarcérogénèse restent mal élucidés. Les dommages UV-induits à l'ADN apparaissent cependant comme un événement initiateur ayant un rôle majeur dans l'induction des cancers cutanés par le rayonnement solaire [9].

Les connaissances sur ces dommages à l'ADN ont beaucoup progressé ces dernières années en particulier par les travaux menés par le laboratoire des lésions des acides nucléiques du CEA de Grenoble dirigé par J. Cadet, A. Favier et maintenant T. Douki ; nous avons collaboré à certains d'eux concernant plus spécifiquement les effets des UVA.

Fortes des notions récentes acquises sur ces lésions provoquées par les UVA à l'ADN des cellules cutanées, tout particulièrement des mélanocytes, nous présenterons les déductions qui peuvent en être faites en termes de mécanisme sous-tendant le rôle potentiel de ces UVA dans la cancérogénèse cutanée induite par les UV.

DOMMAGES À L'ADN CELLULAIRE INDUIT PAR LES UV

Nature des dommages induits à l'ADN cellulaire par les UV et leur réparation [10]

Dommages directs

Des 1960, il a été montré que les UV étaient absorbés par l'ADN avec formation de dimères cyclobutane *cis-syn* de thymine au sein de l'hélice d'ADN.

L'absorption des UV fait en effet passer les bases de l'ADN dans un état physique « excité » les conduisant à fortement réagir chimiquement avec les molécules de voisinage ; les pyrimidines, thymine (T) et cytosine (C), s'avèrent être les plus réactives.

Une pyrimidine excitée peut créer des liaisons covalentes avec une pyrimidine voisine pour créer deux types chimiques de photoproduits dimériques : les dimères dits « cyclobutane » (CPDs), et les photoproduits (6-4) pyrimidone (6-4PPs) et leurs isomères de valence Dewar (DEWs).

Le spectre d'absorption maximal de l'ADN se situe très largement dans les UVB avec production prédominante de CPDs TT et TC et en quantité moindre de CPDs CT et CC et de photoproduits 6-4PPs et de DEWs [10].

Dommages oxydatifs [11]

Après absorption par des photosensibilisants endogènes, les UV sont à l'origine de réactions de photosensibilisation qui génèrent des espèces réactives de l'oxygène (ERO).

L'oxydation photosensibilisée représente une autre voie majeure pour les dommages à l'ADN dans les cellules et la peau exposée aux radiations UV ; la nature des photosensibilisants endogènes reste incomplètement identifiée ; ont été évoquées les porphyrines, la riboflavine, certaines vitamines et plus récemment et surtout la mélanine.

Les lésions induites dans l'ADN par les ERO sont de trois types : les coupures monobrans de l'hélice d'ADN (SSBs), conséquence de l'endommagement des sucres du biopolymère, les pontages ADN- protéines ou *crosslink* et surtout l'oxydation des bases, essentiellement les purines. La 8-oxo-7,8dihydroguanine (8-oxoGua) est ainsi le principal photoproduit généré et de fait largement utilisé comme biomarqueur de l'effet d'un stress oxydatif sur l'ADN cellulaire.

Réparation des dommages induits par les UV à l'ADN

Deux systèmes enzymatiques complexes réparent les lésions induites à l'ADN, par excision de la zone endommagée et resynthèse du morceau d'ADN altéré ainsi éliminé : le système NER (*nucleotide excision repair*) pour la réparation des photoproduits bipyrimidiniques nucléotides et le système BER (*base excision repair*) pour la réparation des bases oxydées.

Détection des photodommages à l'ADN dans les cellules et la peau

Des méthodes variées ont été proposées pour mesurer les photoproduits de l'ADN. Les immuno-essais avec des anticorps polyclonaux et monoclonaux dirigés contre les CPDs ou les 6-4PPs ont été largement utilisés, il en est de même de la technique dite des comètes ou *Single Cell Gel Electrophoresis* et de la mesure des cassures de brins. Développée plus récemment, la chromatographie liquide haute performance associée à la spectrométrie de masse en mode tandem (HPLC-MS/MS) s'est avérée être une méthode particulièrement performante du fait de ses hautes spécificité et reproductibilité pour mesurer de manière quantitative les CPDs, les 6-4PPs et DEWs ainsi que la 8oxo-Gua [12].

UVA ET DOMMAGES À L'ADN

Les UVA induisent des dommages oxydatifs à l'ADN

Dans des travaux expérimentaux déjà présentés dans la présente revue [13], nous avons montré que les UVA créaient des lésions importantes à l'ADN.

L'irradiation à des doses d'UVA, comparables à celles reçues lors d'une exposition solaire naturelle, de fibroblastes cutanés humains en culture déclenche des dommages importants à l'ADN qui peuvent être prévenus par l'addition de puissants antioxydants tel le chlorure de Zinc [14], la N-acetyl-cystéine et le sélénium [15] au milieu de culture et de ce fait ces dommages apparaissent liés au stress oxydatif. L'HPLC-MS/MS tant sur l'ADN isolé que sur de cellules variées en culture l'a ensuite largement confirmé ; la 8-Oxo-Gua est le produit majeur formé sous UVA et elle était formée en quantité beaucoup plus grande que les SSBs et que des bases pyrimidiques oxydées [12, 16].

Les UVA induisent des dommages oxydatifs mais aussi et surtout des CPDs dans l'ADN lors de l'irradiation de cultures cellulaires.

Nos travaux ci-dessus présentés, comme ceux d'autres équipes [17] avaient laissé à penser que les effets génotoxiques des UVA relevaient essentiellement de dommages oxydatifs.

D'autres résultats étaient cependant discordants avec cette hypothèse : absence de prédominance des transversions G : C en T : A (considérées comme la marque mutagénique de la 8-oxo-Gua) [5] ou bien absence d'augmentation du taux de mutation dans les cellules déficients en réparation de la 8-oxo-Gua [18] dans les cellules de mammifères exposées aux UVA. Par ailleurs la formation de dimères de pyrimidine a pu être mise en évidence après irradiation par les UVA de bactéries [19], de cultures de cellules de mammifères [20] et de lymphocytes humains [21] ou de cellules cutanées humaines [22].

Les études suivantes ont montré que le taux de CPDs formés lors de l'irradiation de lignées cellulaires de rongeurs, de monocytes humains et de fibroblastes humains en

culture par les UVA pouvait même être plus important que celui de 8-Oxo-Gua [23, 24].

Les travaux développés au sein du laboratoire des acides nucléiques du CEA de Grenoble basées sur l'HPLC-MS/M ont définitivement confirmé cette prééminence de la formation de produits dimériques à celle de 8oxo-Gua dans les cellules cutanées humaines en culture exposées aux UVA [12, 16, 25, 26].

Dans la peau totale, les UVA induisent aussi majoritairement des photoproduits dimériques.

Les études utilisant l'immuno-histochimie [22, 27] ont montré que dans la peau totale les UVA produisent des CPDs.

S. Mouret *et col.* [28] ont complété ces connaissances nouvelles en l'analysant par HPLC-MS/MS les dommages dans de la peau totale, issue de plastie mammaire et maintenue en survie, provenant de six donneurs caucasiens de phototype intermédiaire, irradiée en UVB et UVA et ce comparativement avec les dommages induits à des kératinocytes en culture issus du même donneur.

L'irradiation UVA de la peau totale, comme d'ailleurs l'irradiation UVB, même aux doses les plus fortes, induit une faible quantité de 8-Oxo-Gua ; à l'inverse elle produit une quantité significative de CPDs T-T, T-C et C-T avec une courbe dose-réponse linéaire ; la distribution de ces différents CPDs est rigoureusement similaire dans la peau totale et les kératinocytes en culture et le dimère T-T est le principal photoproduit formé en quantité 9 fois plus grande que la 8-Oxo-Gua.

Une étude toute récente confirme sur des biopsies pratiquées sur la peau exposée aux UVA de volontaires sains [29] que le principal dommage induit dans la peau humaine totale est le CPDs T-T et non pas un dommage oxydatif.

La photoprotection naturelle de la peau est moins efficace contre les effets délétères sur l'ADN des UVA.

L'étude de S. Mouret *et col.* [28] met en lumière que la structure multicouche de l'épiderme protège efficacement contre les lésions pyrimidiniques induites par les UVB mais qu'elle n'offre qu'une protection très faible contre les UVA. En effet les ratios de formation des CPDs sous UVA et UVB dans les kératinocytes en culture monocouche dont l'ADN est de fait directement exposé aux UV(car il sont dépourvus de mélanine et de kératine et bien sûr non protégés par des couches cellulaires supérieurs et la peau totale, faite de différentes couches de kératinocytes emplis de kératine et de mélanine), sont très différents : 22 fois plus de CPDs sous UVB contre seulement 1,5 fois plus sous UVA sont formés dans les kératinocytes en culture en monocouche, par rapport à la peau totale.

Les études en immuno-histochimie évaluant la formation des dimères de thymine sous UVB à différents niveaux l'épaisseur de l'épiderme [27] montrent aussi cette protection efficace contre les UVB procurée par l'épaisseur de l'épiderme.

Tewari A. *et al.* [29] confirment ceci en montrant qu'avec la profondeur de l'épiderme la quantité de CPDs formés sous UVA augmente alors qu'elle diminue avec les UVB.

La couche basale de l'épiderme, qui outre les kératinocytes contient les mélanocytes, apparaît ainsi particulièrement vulnérable aux UVA.

Dans le même travail, S. Mouret *et coll.* mettent en évidence que dans la peau totale la proportion de CPDs T-T persistant 48h après l'irradiation est significativement plus élevée pour les UVA (78 %) que pour les UVB (55 %), donc la réparation est moins efficace après une exposition UVA qu'après une exposition aux UVB.

Ce résultat est en entière cohérence avec ceux de Courdavault *et coll.* [30] sur cultures primaires de kératinocytes humains (48 h après l'irradiation UVB, diminution de 80 % de la quantité de CPD contre seulement 55 % après une irradiation UVA). Par ailleurs Courdavault *et col.* montrent qu'une exposition préalable aux UVA diminue la réparation des photoproduits induits par une irradiation subséquente aux UVB.

L'ultime moyen de protection de la cellule contre les conséquences des dommages à l'ADN d'une exposition solaire, la réparation, est moins efficace contre les UVA conduisant à l'accumulation des CPDs.

Les réactions photochimiques dans l'ADN des mélanocytes irradiés aux UVA sont particulières et spécifiques.

Plusieurs études ont mis évidence que le mélanocyte était plus sensible au stress oxydant que le kératinocyte [31, 32].

En utilisant l'HPLC-MS/MS, S. Mouret *et coll.* [33] ont précisé le profil des lésions de l'ADN, dans des mélanocytes sous irradiation UVA et UVB et l'ont comparé à celui induit dans les kératinocytes en utilisant des cultures cellulaires issues de la peau du même donneur. Avant toute irradiation, le taux de 8-oxo-Gua est plus élevé dans les mélanocytes que les kératinocytes. Sous UVA, les dimères représentent les dommages prédominant dans le mélanocyte et la quantité des différents dimères formés est la même dans les mélanocytes et les kératinocyte ; en revanche après la quantité de 8-Oxo-Gua est significativement plus élevée dans les mélanocytes que les kératinocytes ; le ratio CPDs /8-oxo-Gua est de 5,2 dans les kératinocytes et seulement de 1,4 dans les mélanocytes.

Il est à noter que la dose d'UVA utilisée dans cette étude correspond à 6 à 12 minutes d'exposition à des bords solaires à usage de bronzage.

Comme dans les autres types cellulaires, les CPDs représentent le principal dommage formé sous UVA dans les mélanocytes ; en revanche les lésions oxydatives sont beaucoup plus importantes dans le mélanocyte que dans le kératinocyte tant avant toute irradiation que sous irradiation UVA où les mélanocytes accumulent plus de produits d'oxydation que les kératinocytes.

La pigmentation constitutive a un rôle protecteur contre les dommages induits à l'ADN par les UVA et les UVB

Pour aborder ce problème nous avons conduit une étude [34] qui a consisté à évaluer la formation des photoproduits de l'ADN comparativement sous UVA et sous UVB dans la peau de deux groupes de volontaires de phototype soit II soit IV selon la classification de Fitzpatrick [35]. La classification des phototypes de Fitzpatrick, est basée sur le croisement de deux paramètres, la sensibilité aux coups de soleil et l'aptitude à bronzer ; la détermination du phototype selon cette classification est un reflet direct de la pigmentation constitutive comme nous avons pu le montrer dans une large étude sur les variations individuelles de la sensibilité au coup de soleil [36] ; dans la même étude nous avons aussi montré que la dose érythémateuse minimale ou DEM, plus petite dose d'UV capable d'induire un érythème visible 24h après l'exposition aux UV, était directement corrélée au phototype d'un sujet et était de ce fait un paramètre objectif fiable pour estimer la sensibilité de la peau aux radiations UV [36].

Au plan méthodologique : ont été inclus 24 volontaires de sexe masculin, sains, d'âge compris entre 20 et 33 ans, 12 de phototype II et 12 de phototype IV. Les DEM des différents volontaires ont été calculées après exposition de la peau à un simulateur solaire selon une méthodologie validée en exploration photobiologique [36].

Quatre biopsies cutanées au punch de 4 mm étaient faites chez chaque volontaire sur une peau non exposée (haut des fesses) : trois des biopsies étaient irradiées ex vivo, 2 en UVA à une dose de 200j/cm² (correspondant à la dose d'UVA reçue un jour d'été), 1 en UVB à une dose de 0,2j/cm² (dose habituellement utilisé pour lors d'une séance de photothérapie pour psoriasis) et la dernière non irradiée servait de contrôle non traité. L'ADN était extrait des prélèvements de peau et les différents photoproduits formés détectés par HPLC-MS/MS.

Les principaux résultats sont :

- une valeur moyenne 1,6 fois supérieure de la DEM dans le phototype IV par rapport au phototype II (Student's $p < 0,01$; Wilcoxon $p < 0,015$) ;
- sous UVB la quantité produite de CPD TT est 1,5 fois inférieure dans la peau de phototype IV par rapport à la peau de phototype II (Student's $p < 0,002$; Wilcoxon $p < 0,01$) ;
- sous UVA la quantité moyenne de CPD TT est significativement plus élevée dans le phototype II que dans le IV (Student's $p < 0,001$; Wilcoxon $p < 0,005$) avec un ratio de 1,6 ;
- une corrélation significative entre la DEM et le taux de CPD TT dans les biopsies exposées aux UVA comme aux UVB ($r = -0,6253$, $p < 0,002$) ;
- une corrélation claire entre la production de CPD TT par les UVB et par les UVA ($r = 0,8075$, $p < 0,001$) dans chacun des deux phototypes.

Nous montrons ainsi que le ratio des taux de CPDs TT entre les deux phototypes est le même que celui des DEM (égal à 1,5) tant après irradiation UVB que UVA. Cette

similitude reflète la bonne corrélation entre DEM, phototype et la quantité de TT-CPD produite tant par les UVB que les UVA.

Le phototype, reflet direct de la pigmentation constitutive d'un individu, est donc le paramètre clé qui régule la formation des CPDs tant par les UVB que les UVA et par là-même le risque pour les carcinomes dans la genèse desquels les dimères occupent majeure lors de l'initiation tumorale.

DISCUSSION

L'amélioration des techniques d'analyse des lésions à l'ADN, tout particulièrement l'HPLC MS/MS a permis de mieux connaître l'importance des dommages à l'ADN provoqués par les UVA longtemps sous-estimés par rapport à ceux dus aux UVB. Ces notions récentes éclairent d'un jour nouveau la compréhension des mécanismes à l'origine des cancers cutanés induits par l'exposition solaire, tout particulièrement les mélanomes.

Les UVA induisent principalement des dommages directs à l'ADN.

Les méthodes d'analyse les plus récentes mettent en évidence que, quelque soit le type cellulaire choisi pour l'expérimentation ainsi que dans la peau totale, sous irradiation aux UVA les dommages directs sous forme de dimères de dipyrimidine de type cyclo-butane sont largement prédominants par rapport aux dommages oxydatifs caractérisés par la formation de 8-oxo-GUA ; le principal d'entre eux est le CPD-TT. Le mécanisme de formation des CPDs par les UVA reste aujourd'hui hypothétique ; les travaux les plus récents sont en faveur d'une photoréaction directe résultant d'une absorption des UVA par l'ADN [37, 38].

Les dommages induits par les UVA rejoignent ainsi en partie ceux induits par les UVB mais cette capacité des UVA à former des CPDs est cependant d'un ordre de magnitude de 3 par rapport à celle des UVB. Exprimé plus simplement on peut dire qu'il faut une dose 1 000 fois supérieure pour induire la même quantité de dimères dans l'ADN cellulaire par une irradiation UVA qu'avec une irradiation UV ; à l'inverse, ceci est à mettre en parallèle avec le fait qu'au cours d'une journée exposition naturelle la dose d'UVA reçue par la peau est de 20 à 100 fois supérieure à celle d'UVB.

Les moyens de photoprotection naturelle de la peau sont moins efficaces contre les dommages induits par les UVA à l'ADN.

La protection procurée par les couches supérieures de kératinocytes très efficace contre les UVB l'est beaucoup moins contre les UVA puis que sous UVA le ratio de CPDs formés dans les kératinocytes en culture monocouche et dans la peau totale est très inférieur à celui observé sous UVB. Ce résultat est en parfaite cohérence avec

le fait bien établi que seulement 15 % des UVB parviennent jusqu'à la couche basale de l'épiderme alors que 50 % des UVA atteignent le derme.

Par ailleurs la réparation des CPD- TT induits par les UVA apparaît plus lente que celle des CPD-TT induits par les UVB ; une altération la fonctionnalité des protéines de réparation par le stress oxydant généré par les UVA pourrait être en cause.

Il apparaît donc que les couches inférieures de l'épiderme, où se situent les mélanocytes, sont moins bien protégées par les couches superficielles de l'épiderme contre les UVA que contre les UVB et parallèlement la réparation des CPDs formés sous UVA est moins efficace conduisant à l'accumulation de ceux-ci.

La dangerosité des UVA du fait du fort pouvoir mutagène des CPDs.

Le fort impact mutagénique des CPDs est bien documenté sur cultures cellulaires [39] et dans les tumeurs cutanées humaines [40-44] ; ce rôle central des CPDs dans la survenue des cancers cutanés est confirmé par le Xeroderma Pigmentosum (XP), pathologie- modèle de la cancérogenèse humaine [45].

Plusieurs publications impliquent clairement les CPDs, plutôt que la 8-Oxo-Gua, comme photoproduits promutagéniques induits par les UVA avec une majorité d'événements mutationnels aux sites dipyrimidiniques dans les cellules humaines irradiées aux UVA [4, 5, 46, 47].

Ces mutations connues sous le terme de signature UV signature ou « d'empreinte digitale » UV sont caractérisées par des transitions C vers T ou CC vers TT au niveau des séquences dipyrimidiniques.

Dans la survenue des carcinomes, ces mutations concernent essentiellement les gènes suppresseurs de tumeur. Ainsi, la perte de la fonction du gène suppresseur de tumeur P53 du fait de mutations par substitution de bases de type UV est un facteur fondamental dans le développement des CE et des CBC [40-42, 48, 49].

De même les altérations de la voie de signalisation hedgehog mises en évidence dans la naevomatose basocellulaire ou syndrome de GORLIN (affection génétique caractérisée par une multiplication de CBC) sont retrouvées dans les CBC sporadiques. Ainsi 90 % des CBC sporadiques ont également des mutations du gène patched 1 et 10 % du gène SMO (*cell-membrane associated smoothed homolog*) [50, 51] ; un nombre substantiel des mutations observées dans les deux gènes sont des mutations de type UV [52, 53]

À l'inverse, p53 est rarement muté dans les mélanomes. Une étude récente [54] portant sur les mélanomes survenant chez les patients XP a retrouvé dans 56 % des cas des mutations dans le gène suppresseur de tumeurs PTEN (*phosphatases and tensin homologue*) et 91 % d'entre elles étaient de type signature UV. La similitude de répartition anatomique des mélanomes chez les patients XP et dans la population générale [55] et le fait que les études de séquençage montrent que les mutations du gène PTEN dans les mélanomes de la population générale sont aussi pour 87 % de

type UV [56] sont aussi en faveur d'un rôle de ces mutations de signature UV au moins dans un certain nombre de mélanome.

Des études toutes récentes retrouvent d'autres mutations dans le mélanome (RAC1, PPP6C, and STK19, PPP6C,) avec une signature UV pour les mélanomes des zones découvertes mais pas pour les mélanomes de topographie acrale, muqueuse ou uvéale dont la genèse semble à l'évidence échappée aux r expositions solaires [57, 58].

De manière intéressante, il est à noter qu'il n'existe pas de mutation à signature UV dans les gènes Braf et Nras, très fréquemment mutés dans les mélanomes humains.

La particularité et de la spécificité des réactions photochimiques dans l'ADN des mélanocytes irradiés aux UVA.

Elles apportent des éléments conséquents à la compréhension du rôle des UV dans la survenue des mélanomes.

Les CPDs mutagènes sont les principaux dommages après exposition aux UVA des mélanocytes

Contrairement à ce qui pourrait être attendu les mélanocytes ne sont mieux protégés par la mélanine qu'ils synthétisent que les kératinocytes contre la formation des CPDs induits tant par les UVB que les UVA.

La constatation que la survie des mélanocytes irradiés est affectée de manière marginale par une augmentation de production de mélanine [59] va dans le même sens.

Il est par ailleurs à signaler qu'une étude récente a montré que la réparation des CPDs était moins performante dans le mélanocyte [31] et qu'une étude clinique a mis en évidence un lien entre une réduction des capacités de réparation de l'ADN et l'incidence du mélanome [60].

Mal protégés par la mélanine et le siège d'une réparation moins efficace des CPDs, les mélanocytes apparaissent ainsi plus vulnérables pour des mutations subséquentes à la formation de CPDs que les kératinocytes.

Le mélanocyte est le siège d'un stress oxydatif permanent aggravé par l'exposition aux UVA

Avant toute irradiation les lésions oxydatives (8-OXO-Gua) sont plus importantes dans l'ADN du mélanocyte que dans l'ADN du kératinocyte confortant l'hypothèse que la synthèse de mélanine, seule fonction physiologique spécifique aux mélanocytes, génère des ERO et de fait le mélanocyte serait le siège d'un stress oxydatif permanent [32, 61].

Une étude récente [62] montre les conséquences potentielles de cette donnée ; elle révèle en effet une voie de signalisation indépendante des UV impliquée dans la genèse du mélanome, et directement liée au potentiel prooxydant de la phacomé-

lanine s'exprimant si mutation de braf. Ainsi les sujets roux qui synthétisent essentiellement de la phaéomélanine, apparaissent comme pouvant avoir un facteur de risque intrinsèque de développer un mélanome, via un mécanisme de dommages oxydatifs indépendant des radiations UV.

Sous irradiation UVA les mélanocytes accumulent plus de produits d'oxydation que les kératinocytes. Plusieurs explications peuvent être données à ce résultat à priori surprenant : la défense antioxydante pourrait être moins efficace dans le mélanocyte que dans le kératinocyte, la synthèse de la phaéomélanine consomme de la cystéine, composant essentiel du glutathion qui a un rôle majeur dans la défense antioxydante endogène [13], enfin la mélanine est une molécule à deux faces, protectrice mais aussi prooxydante sous irradiation nous allons y revenir.

Le mélanocyte apparaît ainsi comme particulièrement vulnérable à l'exposition aux UVA qui induit une accumulation à la fois des lésions dipyrimidiniques comme dans le kératinocyte mais également une grande quantité de lésions oxydatives.

Cette photochimie particulière dans le mélanocyte sous UVA a-t-elle des prolongements dans la connaissance des relations mélanome-exposition aux UV ?

Une très belle étude expérimentale récente, le met en exergue.

Noonan F.P. *et coll.* [63] ont utilisé des souris transgéniques (*hepatocyte growth factor/scatter factor (HGF) transgenic mouse*), modèle de mélanome ayant de grandes similitudes avec la pathogénie du mélanome humain.

Deux souches de ces souris transgéniques, l'une pigmentée, l'autre albinos, ont été soumises à des expositions répétitives aux UVB et UVA et il est montré que :

- la présence de mélanine dans les mélanocytes facilite la survenue de mélanome, les mélanomes apparaissant plus rapidement chez les animaux pigmentés que chez les albinos ;
- l'induction de mélanomes par les UVB et par les UVA se fait via deux voies différentes. En effet l'induction est indépendante de la pigmentation pour les UVB (même capacité à induire des mélanomes chez les souris pigmentées et albinos) en revanche la possibilité d'induction par les UVA est entièrement dépendante de la pigmentation avec impossibilité d'induire des mélanomes sous UVA dans la souche albinos.

Les auteurs ont complété en analysant les dommages à l'ADN par immunohisto-chimie et par HPLC MS/MS dans de la peau néonatale provenant de souris pigmentées et albinos: dans la souche pigmentée la 8-Oxo-GUA n'est pas mise en évidence avant irradiation mais apparaît après irradiation UVA alors que dans la souche albinos elle n'est présente ni avant ni après irradiation UVA ; parallèlement les UVB induisent peu de 8-Oxo-GUA dans la souche pigmentée. Ces résultats sont confirmés sur mélanocytes en culture : sous UVA, une forte production de 8-oxo-

GUA est induite uniquement dans les mélanocytes issus de la souche pigmentée alors que les UVB en induisent peu.

La seule différence entre les mélanocytes des deux souches étant leur teneur en mélanine, cette augmentation de production de 8-oxo-GUA, expression de l'effet du stress oxydatif sur l'ADN dans le mélanocyte de la souche pigmentée sous UVA, ne peut être attribuée qu'à la mélanine.

Cette étude montre l'existence potentielle d'au moins deux voies distinctes pour l'induction de mélanomes par l'exposition solaire : une voie indépendante de la pigmentation liée aux UVB qui agirait via des dommages directs à l'ADN des mélanocytes et une voie dépendant de la pigmentation, initiée par les UVA, qui agirait en induisant préférentiellement des dommages oxydatifs initiés par la mélanine.

La place de cette voie oxydative dans l'induction des mélanomes par les UVA est confortée d'une part par la constatation qui a été faite d'un effet protecteur de la N-acetyl-cystéine (puissant antioxydant) [13] contre les mélanomes induits par les UVA dans ce modèle de souris transgénique [64] et d'autre part par la mise en évidence que les mutations de type ERO secondaires à l'oxydation de la guanine sont les secondes plus fréquentes mutations séquencées dans le mélanome humain [65, 66].

Ce travail comme celui de S. Mouret est en complète cohérence avec la constatation clinique que les albinos africains dont la peau est pourvue de mélanocytes mais qui ne synthétisent pas de mélanine (déficit en tyrosinase) sont très susceptibles aux carcinomes mais beaucoup moins aux mélanomes [67].

La pigmentation constitutive protège des dommages à l'ADN induits tant par les UVA que les UVB.

Dans nos travaux nous montrons la bonne corrélation entre DEM, phototype et la quantité de CPD TT produite tant par les UVB que les UVA.

La corrélation entre CPDs induits par les UVB et phototype et DEM avait été antérieurement montrée [68-70], pas à notre connaissance entre CPDs induit par les UVA et phototype.

Ces résultats confirment que la pigmentation constitutive, qualifiée par le phototype et dont l'efficacité est évaluée par la DEM, est un paramètre-clé qui régule l'induction des dommages à l'ADN tant par les UVA que les UVB ; plus elle est intense (phototype IV) plus elle représente une protection efficace contre les dommages à l'ADN qu'ils soient provoqués par les UVA ou les UVB.

Cette étude est en parfaite cohérence avec les données épidémiologiques et leur donne un substratum moléculaire pertinent. Il est en effet aujourd'hui définitivement admis que le risque des cancers cutanés est inversement relié à la pigmentation constitutive de la peau. Il est ainsi estimé que la peau foncée offre une protection environ 13 fois supérieure à la peau claire.

Le rôle ambigu de la mélanine

Ces résultats montrant un lien direct entre intensité des dommages à l'ADN induits par les UVA et phototype, apparaissent en contradiction avec l'hypothèse précédemment émise que la mélanine pourrait être le photosensibilisant responsable du stress oxydant déclenché dans les mélanocytes par les UVA.

En fait, ces deux constatations ne font que souligner l'ambivalence de la mélanine face aux expositions UV, comme des travaux l'avaient antérieurement montré [71].

Le rôle photoprotecteur de la mélanine

Il existe en fait deux types de mélanine : l'eumélanine noire qui absorbe totalement la lumière et est dès lors un excellent photoprotecteur et la phaeomélanine, aux qualités photoprotectrices bien moindre.

Le rôle photoprotecteur de la mélanine relève d'une série de processus bien régulés : synthèse de la mélanine dans les mélanosomes, transfert des mélanosomes aux kératinocytes et un arrangement géométrique en bouclier protecteur autour du noyau des kératinocytes des mélanosomes [72].

Ces processus sont hautement efficaces dans la peau noire où la mélanine constitutive est essentiellement de l'eumélanine présente jusque dans les kératinocytes des couches superficielles de l'épiderme ; à l'inverse dans la peau blanche, les mélanosomes ne sont présents que dans les couches profondes de l'épiderme, les couches superficielles de kératinocytes ne forment plus cet écran protecteur pour les couches plus profondes et en particulier pour les mélanocytes de la couche basale. La protection est par ailleurs d'autant moins efficiente que la synthèse est déviée vers la phaeomélanine donc que la peau sera claire [69].

C'est ce que confirment les résultats de S. Mouret *et coll.*

Le rôle prooxydant de la mélanine

La synthèse de la mélanine passe par des intermédiaires quinone hautement réactif et la mélanine partiellement polymérisée, contrairement à la mélanine entièrement agrégée, se comporte comme un photosensibilisant, produisant des ERO après absorption photonique, particulièrement en présence de métaux interférant sur le potentiel Redox comme le fer [73].

Ces propriétés prooxydantes expliquent certainement le stress oxydant dans les mélanocytes à l'état basal, et la majoration de celui-ci sous irradiation UVA, principalement lors que la synthèse est déviée vers la phaeomélanine comme c'est le cas pour les peaux rousses. En effet la phaeomélanine purifiée issue de cheveux roux mais pas l'eumélanine de cheveux noirs est un puissant prooxydant [74].

L'hypothèse d'une voie oxydative impliquant la mélanine est-elle plausible dans l'étape d'initiation du mélanome ?

Cette hypothèse fortement suggérée par les résultats expérimentaux précédemment exposés est cohérente avec les résultats épidémiologiques. Outre la particularité pour les Albinos, le risque de carcinomes cutanés est 70 fois supérieures chez les caucasiens par rapport aux sujets à peau noire mais ce ratio correspondant n'est que de 20 pour le mélanome [75]

Une étude récente [76] apporte encore une nouvelle pièce. Elle montre à nouveau le rôle de la mélanine dans le stress oxydant permanent auquel sont soumis le mélanocyte ; par ailleurs elle met en évidence, à côté de sa fonction de suppresseur de tumeur bien connue, un rôle antioxydant pour la protéine P16 dans le mélanocyte mais pas le fibroblaste. Ce rôle antioxydant de p16 s'opposant au potentiel prooxydant de la mélanine pourrait apporter une hypothèse pour participer à expliquer la prédisposition des sujets mutés pour le gène CDKN2a (qui code pour P16) à développer des mélanomes.

Une autre étude [77] montre que les UVB induisent une interaction entre le gène suppresseur de tumeur PTEN et le gène MC1R qui régule la synthèse mélanique et le type de mélanine synthétisé. Lorsque cette interaction se fait entre PTEN et la forme sauvage (donc active) de MC1R, il y a inactivation de la voie mTor, une voie importante d'oncogenèse ; à l'inverse cette interaction protectrice est supprimée dans le variant redhair/fairskin de MC1R (correspondant chez l'homme au phototype roux) en présence de la mutation Braf v600.

Cette hypothèse d'une voie oxydative participant aux mécanismes de la mélanomagenèse permet d'établir un lien entre les mélanomes paraissant dépendre des expositions solaires et ceux qui ne le paraissent pas ; il pourrait exister une voie intrinsèque d'induction dépendant du stress oxydant permanent dans le mélanocyte lié à la phaémélanine, amplifiée par le fort stress oxydant induit dans le mélanocyte par l'exposition aux UVA et qui s'exprimerait en présence de certaines mutations facilitant le mélanome comme B-raf, CDKN2a, MC1R.

Par ailleurs les dommages dipyrimidiques, événement initiateur central dans les carcinomes, pourraient intervenir dans le mélanome dans d'autres situations par exemple dans les mélanomes survenant des zones chroniquement photoexposées, qui se sont avérées non associés aux mutations de B-raf.

La pigmentation facultative est un mauvais photoprotecteur, particulièrement si elle est obtenue par exposition aux UVA

Le bronzage déclenché par les UVA ne confère aucune protection, l'étude de Miyamura [78] montre ainsi que l'induction d'un bronzage que ce soit par les UVB ou les UVA provoque toujours des dommages dimériques à l'ADN et qu'un bronzage obtenu par exposition répétée aux UVB ne procure qu'une protection

modeste contre les dommages à l'ADN induits par les expositions ultérieures et que celui obtenu par des expositions répétées aux UVA n'en procure aucune.

En fait la pigmentation induite par les UVA et les UVB est de nature différente.

Les UVB activent tous les processus de la mélanogenèse ; en revanche la pigmentation induite par les UVA relève de l'oxydation de précurseurs hydroxyindole non colorés de la mélanine présents dans les couches basales et suprabasales de l'épiderme en dehors des mélanocytes.

Ces précurseurs (acide 5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic (DHICA) et ses métabolites) se changent en pigment coloré en noir sous exposition aux UVA mais pas aux UVB, produisant une pigmentation irréversible brun-noir ; la même réaction chimique est obtenue par le peroxyde d'hydrogène *in vitro* témoignant que cette transformation relève d'un phénomène d'oxydation. Il a été montré [79] que ce pigment coloré en noir est généré directement en dehors des mélanocytes en réponse à une exposition aux UVA.

Ainsi les expositions répétées aux UVB déclenchent les processus de la pigmentation constitutive et procurent une certaine mais incomplète protection tandis que les UVA qui colorent la peau par un mécanisme chimique différent de ceux de la pigmentation constitutive, n'en procurent aucune et de plus est générateur d'un fort stress oxydant.

Les produits de protection solaire (PPS) sont efficaces pour prévenir la survenue des cancers cutanés.

À partir d'une cohorte australienne de sujets immunocompétents suivie pendant 5 ans [80, 81], il a été montré un effet préventif contre les carcinomes épidermoïdes, les kératoses actiniques mais pas les carcinomes basocellulaires, par l'application tous les matins sur le visage, les mains, les bras le cou (et éventuellement les autres zones découvertes) d'un produit de protection solaire de puissance moyenne (facteur de protection solaire ou SPF de 15) couvrant les UVA, avec renouvellement en cas de bain ou d'exposition prolongée.

Ulrich et *al.* [82] ont montré de la même manière que l'application quotidienne pendant deux ans d'un produit antisolaire de très haute protection, réduit significativement le nombre de kératoses actiniques et la survenue de carcinomes épidermoïdes, mais pas de carcinomes basocellulaires, chez des sujets ayant subi une greffe d'organes et donc immunodéprimés.

La cohorte australienne a aussi permis de mettre en évidence [83] que l'utilisation régulière pendant 5 ans du PPS de SPF 15 prévenait la survenue de mélanomes les années postérieures. Il convient cependant de préciser que cette étude montre une protection lors d'expositions environnementales, essentiellement « dans la vie de tous les jours », mais ne renseigne pas sur une éventuelle protection en cas d'expositions « volontaires » comme lors des activités sportives ou de loisir en particulier les « bains de soleil ».

Une telle protection ne peut cependant être obtenue qu'avec des PPS qui respecte recommandations établies par L'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSAPS), à partir d'un rapport établi par un groupe d'expert, et qui ont ensuite été validées par la Commission Européenne. Ces recommandations précisent les critères nécessaires pour revendiquer le qualificatif de produit de protection solaire en particulier insistent sur la nécessité d'une photoprotection contre les UVA harmonieuse avec celle offerte contre les UVB.

Enfin, les recommandations établies par la FDA (Food and Drug Administration), précisent que les PPS de SPF supérieur à 15 et offrant une couverture UVA peuvent revendiquer une efficacité dans la prévention des cancers cutanés [84] ; rappelons qu'aux États-Unis les PPS ont le statut de médicament.

En synthèse, il apparaît à l'évidence que les UVA sont particulièrement dangereux pour les mélanocytes. En effet dans cette cellule ils induisent des dommages directs (CPDs) et oxydatif (8-oxo-Gua) à l'ADN avec des conséquences mutagéniques potentielles clairement identifiées ; par ailleurs les UVA ont une pénétration plus importante dans l'épiderme que les UVB leur donnant une plus grande capacité à endommager les cellules de la couche basale de l'épiderme, mélanocytes mais aussi kératinocytes doués de mitoses qui pérennisent les mutations ; enfin les dommages induit à l'ADN par les UVA sont moins bien réparés que ceux induits par les UVB.

De fait la décision de l'agence internationale pour la recherche sur le cancer de classer l'ensemble du spectre solaire, en particulier les UVA ainsi que les dispositifs à bronzer comme agent cancérigène de groupe 1 chez homme, comme par exemple le tabac pour le cancer du poumon, est parfaitement justifiée [85].

De très nombreuses études épidémiologiques vont toutes dans le même sens en montrant l'augmentation du risque de mélanome chez les utilisateurs de lampe à bronzer particulièrement les jeunes femmes. La méta-analyse de M. Bonniol *et coll.* le confirme sans ambiguïté [86] ; la synthèse des résultats de 27 études observationnelles publiées ces 30 dernières années montre un risque relatif de mélanome de 1,2 dans l'ensemble de la population des individus qui utilisent régulièrement les lampes à bronzer ; ce risque est doublé quand le début des séances se fait avant 35 ans. À partir des données de cette métaanalyse les auteurs ont pu estimer que l'usage des lits à bronzer pourrait être responsable de 3438 (5,4 %) des 63 942 nouveaux cas de mélanome cutanés diagnostiqués chaque année en Europe, les femmes représentant la majorité avec 2 341 cases (6,9 %) et qu'environ 498 femmes et 296 hommes pourraient mourir chaque année de mélanome comme conséquence d'exposition à des sources artificielles d'UV à fin de bronzage.

Une autre métaanalyse a aussi mis en évidence un risque relatif de 2,23 pour le carcinome épidermoïde chez les utilisateurs de dispositifs à bronzer [87].

L'argument développé par les fabricants de ces dispositifs émettant essentiellement des UVA d'une préparation de la peau qui sera ensuite protégée est une ineptie scientifique, comme nous l'avons montré, et leur autre argument particulièrement pernicieux de favoriser la synthèse de vitamine D, dont nous manquons tous, est

une deuxième ineptie car la synthèse de la vitamine D a un spectre d'action dans l'UVB !

L'Académie nationale de médecine a pris position sur les cabines à bronzer en adoptant dans sa séance du mardi 26 mai 2009, à l'unanimité le texte du communiqué, *À propos de l'utilisation des cabines à bronzer*, présenté par Jean Civatte et Jacques Bazex (*Bull Acad Natle Med.* 2009,193(5):1195-6).

Leur usage devrait être définitivement interdit.

RÉFÉRENCES

- [1] REMONTEY L., ESTÈVE J., BOUVIER A.M., et al. Estimations nationales : tendances de l'incidence et de la mortalité par cancer en France de 1978 à 2000 (Institut National de Veille Sanitaire). *BEH.* 2003 ; 41-42: 190-3.
- [2] TUCKER M.A. — Melanoma epidemiology. *Hematol. Oncol. Clin. North. Am.*, 2009, 23(3), 383-951.
- [3] CADI R., BEANI J.C., JACROT M., PINEL N., AMBLARD P. — UV-induced squamous cell carcinomas in the hairless mouse. Morphological characteristics and transplantation in the syngenic and nude mouse. *Acta. Derm. Venereol.*, 1991, 71, 32-6.
- [4] ROCHETTE P.J., THERRIEN J-P., DROUIN R., et al. — UVA-induced cyclobutane pyrimidine dimers form predominantly at thymine-thymine dipyrimidines and correlate with the mutation spectrum in rodent cells. *Nucleic. Acids. Res.*, 2003, 31, 2786-94.
- [5] KAPPES U.P., LUO D., POTTER M., et al. — Short- and long-wave light (UVB and UVA) induce similar mutations in human skin cells. *J. Invest. Dermatol.*, 2006, 126, 667-75.
- [6] DE LAAT J.M., SEITE S., GROENENDIJK M., et al. — Chronic UVA (365-nm) irradiation induced scratching in hairless mice: dose-time dependency and the effect of ketanserin. *Exp Dermatol.* 1997, 6, 292-7.
- [7] PASTILA R., LESZCZYNSKI D. Ultraviolet A exposure might increase metastasis of mouse melanoma: a pilot study. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* 2005, 21,183-90.
- [8] SETLOW R.B., GRIST E., THOMPSON K., et al. — Wavelengths effective in induction of malignant melanoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1993, 90, 6666-70.
- [9] MELNIKOVA V.O., ANANTHASWAMY H.N. — Cellular and molecular events leading to the development of skin cancer. *Mutat. Res.*, 2005, 571, 91-106.
- [10] CADET J., MOURET S., RAVANAT J.L., DOUKI T. — Photoinduced Damage to Cellular DNA: Direct and Photosensitized Reactions. *Photochem. Photobiol.*, 2012, 88, 1048-65.
- [11] CADET J., DOUKI T., RAVANAT J.L., et al. — Sensitized formation of oxidatively generated damage to cellular DNA by UVA radiation. *Photochem. Photobiol. Sci.*, 2009, 8, 903-11.
- [12] POUGET J.P., DOUKI T., RICHARD M.-J., CADET. — DNA damage induced in cells by gamma and UVA radiation as measured by HPLC/GC-MS and HPLC-EC and Comet assay *J. Chem. Res. Toxicol.*, 2000, 13, 541-9.
- [13] BÉANI J.C. — Enhancement of endogenous antioxidant defenses: a promising strategy for prevention of skin cancers *Bull. Acad. Natl. Med.*, 2001, 185(8), 1507-27.
- [14] LECCIA M.T., RICHARD M.J., FAVIER A., BEANI J.C. — Zinc protects against ultraviolet A1-induced DNA damage and apoptosis in cultured human fibroblasts. *Biol. Trace El. Res.*, 1999, 69, 177-90.

- [15] EMONET-PICCARDI N., RICHARD M.J., RAVANAT J.L., SIGNORINI N., CADET J., BEANI J.C. — Protective effects of antioxidants against UVA-induced DNA damage in human skin fibroblasts in culture. *Free. Rad. Res.*, 1998, 29, 307-13.
- [16] CADET J., DOUKI T. — Oxidatively generated damage to DNA by UVA radiation in cells and human skin. *J. Invest. Dermatol.*, 2011, 131, 1005-7.
- [17] KIELBASSA C., ROZA L., EPE B. — Wavelength dependence of oxidative DNA damage induced by UV and visible light. *Carcinogenesis*. 1997, 18, 811-6.
- [18] KAPPES U.P., RUNGER T.M. — No major role for 7,8-dihydro-8-oxoguanine in ultraviolet light-induced mutagenesis *Radiat. Res.*, 2005, 164, 440-5.
- [19] TYRRELL R.M. — Induction of pyrimidine dimers in bacterial DNA by 365nm radiation. *Photochem. Photobio.*, 1973, 17, 69-73.
- [20] PERDIZ D., GROF P., MEZZINA M., et al. — Distribution and repair of bipyrimidine photoproducts in solar UV-irradiated mammalian cells. Possible role of Dewar photoproducts in solar mutagenesis. *J. Biol. Chem.*, 2000, 275, 26732-42.
- [21] FREEMAN S.E., RYAN S.L. — Wavelength dependence for UV-induced pyrimidine dimer formation in DNA of human peripheral blood lymphocytes. *MUTAT. RES.*, 1990, 235, 181-6.
- [22] YOUNG A.R., POTTEN C.S., NIKAIIDO O., et al. — Human melanocytes and keratinocytes exposed to UVB or UVA *in vivo* show comparable levels of thymine dimers. *J. Invest. Dermatol.*, 1998, 111, 936-40.
- [23] FREEMAN S.E., HACHAM H., GANGE R.W et al. — Wavelength dependence of pyrimidine dimer formation in DNA of human skin irradiated *in situ* with ultraviolet light. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1989, 86, 5605-9.
- [24] DOUKI T., PERDIZ D., GROF P., KULUNCSICS Z., et al. — Oxidation of guanine in cellular DNA by solar UV radiation: biological role *Photochem Photobiol.* 1999, 70, 184-90.
- [25] COURDAVAULT S., BAUDOIN C., CHARVERON M., et al. — Larger yield of cyclobutane dimers than 8 oxo-7,8-dihydroguanine in the DNA of UVA-irradiated human skin cells. *MUTAT. RES.*, 2004, 556, 135-42.
- [26] DOUKI T., REYNAUD-ANGELIN A., CADET J., et al. — Bipyrimidine photoproducts rather than oxidative lesions are the main type of DNA damage involved in the genotoxic effect of solar UVA radiation. *Biochemistry*. 2003, 42, 9221-6.
- [27] CHADWICK C.A., POTTEN C.S., NIKAIIDO O., et al. — The detection of cyclobutane thymine dimers, (6-4) photolesions and the Dewar photoisomers in sections of UV-irradiated human skin using specific antibodies, and the demonstration of depth penetration effects. *J. Photochem. Photobiol. B.*, 1995, 28, 163-70.
- [28] MOURET S., BAUDOIN C., CHARVERON M., et al. — Cyclobutane pyrimidine dimers are predominant DNA lesions in whole human skin exposed to UVA radiation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 2006, 103, 13765-70.
- [29] TEWARI A., SARKANY R.P., YOUNG A.R. — UVA1 induces cyclobutane pyrimidine dimers but not 6-4 photoproducts in human skin *in vivo*.. *J. Invest. Dermatol.*, 2012, 132, 394-400.
- [30] COURDAVAULT S., BAUDOIN C., CHARVERON M., et al. — Repair of the three main types of bipyrimidine DNA photoproducts in human keratinocytes exposed to UVB and UVA radiations. *DNA Repair*. 2005, 4, 836-44.
- [31] WANG H.T., CHOI B., TANG M.S. — Melanocytes are deficient in repair of oxidativeDNA damage and UV-induced photoproducts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 2010, 107, 12180-5.
- [32] SONG X.Z., MOSBY N., YANG J., XU A., ABDEL-MALEK Z., KADEKARO A.L. — Alpha-MSH activates immediate defense responses to UVinduced oxidative stress in human melanocytes. *Pigm. Cell. Melanoma. Res.*, 2009, 22, 809-18.

- [33] MOURET S., FORESTIER A., DOUKI T. — The specificity of UVA-induced DNA damage in human melanocytes. *Photochem. Photobiol. Sci.*, 2012, 11, 155-62.
- [34] MOURET S., LECCIA M.T., BOURRAIN J.L., DOUKI T. and BEANI J.C. — Individual Photosensitivity of Human Skin and UVA-Induced Pyrimidine Dimers in DNA. *J. Invest. Dermatol.*, 2011, 131, 1539-46.
- [35] FITZPATRICK T.B. — The validity and practicality of sun-reactive skin type-I through type-VI. *Arch. Dermatol.*, 1988, 124, 869-71.
- [36] AMBLARD P., BEANI J., GAUTRON R., et al. — Statistical study of individual variations in sunburn sensitivity in 303 volunteers without photodermatosis. *Arch. Dermatol. Res.*, 1982, 274, 195-206.
- [37] SUTHERLAND J.C., GRIFFIN K.P. — Absorption spectrum of DNA for wavelengths greater than 300 nm. *Radiat. Res.*, 1981, 86, 399-409.
- [38] MOURET S., PHILIPPE C., GRACIA-CHANTEGREL J., et al. — UVA-induced cyclobutane pyrimidine dimers in DNA: a direct photochemical mechanism? *Org. Biomol. Chem.*, 2010, 8, 1706-11.
- [39] YOU Y.H., LEE D.H., YOON J.H., et al. — Cyclobutane pyrimidine dimers are responsible for the vast majority of mutations induced by UVB irradiation in mammalian cells. *J. Biol. Chem.*, 2001, 276, 44688-94.
- [40] BRASH D.E., RUDOLPH J.A., SIMON J.A., et al. — A role for sunlight in skin cancer: UV-induced p53 mutations in squamous cell carcinoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1991, 88, 10124-8.
- [41] DUMAZ N., DROUGARD C., SARASIN A., et al. — Specific UV-induced mutation spectrum in the p53 gene of skin tumors from DNA-repair-deficient xeroderma pigmentosum patients. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1993, 90, 10529-33.
- [42] ZIEGLER A., LEFFEL D.J., KUNALA S., et al. — Mutation hotspots due to sunlight in the p53 gene of nonmelanoma skin cancers. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1993, 90, 4216-20.
- [43] PFEIFER G.P., BESARATINIA A. — UV wavelength-dependent DNA damage and human non-melanoma and melanoma skin cancer. *Photochem. Photobiol. Sci.*, 2012, 11, 90-7.
- [44] IKEHATA H., ONO T. — The mechanisms of UV mutagenesis. *J. Radiat. Res.*, 2011, 52, 115-25.
- [45] CLEAVER J.E. — Historical aspects of xeroderma pigmentosum and nucleotide excision repair. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2008, 637, 1-9.
- [46] AGAR N.S., HALLIDAY G.M., BARNETSON R.S., ANANTHASWAMY H.N., WHEELER M., JONES A.M. — The basal layer in human squamous tumors harbors more UVA than UVB fingerprint mutations: a role for UVA in human skin carcinogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 2004, 101, 4954-59.
- [47] BESARATINIA A., SYNOLD T.W., CHEN H-H., CHANG C., XI B. et al. — DNA lesions induced by UV A1 and B radiation in human cells: comparative analyses in the overall genome and in the p53 tumor suppressor gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 2005, 102, 10058-63.
- [48] D'ERRICO M., CALCAGNILE A., CANZONA F., et al. — UV mutation signature in tumor suppressor genes involved in skin carcinogenesis in xeroderma pigmentosum patients. *Oncogene*. 2000, 19, 463-7.
- [49] ZIEGLER A., JONASON A.S., LEFFEL D.J., et al. — Sunburn and p53 in the onset of skin cancer. *Nature.*, 1994, 372, 773-6.
- [50] CARO I., LOW J.A. — The Role of the Hedgehog Signaling Pathway in the Development of Basal Cell Carcinoma and Opportunities for Treatment. *Clin. Cancer Res.*, 2010, 16, 3335-9.
- [51] IWASAKI J.K., SRIVASTAVA D., MOY R.L., et al. — The molecular genetics underlying basal cell carcinoma pathogenesis and links to targeted therapeutics. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 2012, 66, 167-78.

- [52] DAYA-GROSJEAN L., COUVE-PRIVAT S. — Sonic hedgehog signaling in basal cell Lacour JP. Carcinogenesis of basal cell carcinomas: genetic and molecular mechanisms. *Br. J. Dermatol.*, 2002, 146(Suppl.61), 17-9.
- [53] VON HOFF, D.D., LORUSSO P.M., RUDIN C.M. et al. — Inhibition of the Hedgehog Pathway in Advanced Basal-Cell Carcinoma. *N. Engl. J. Med.*, 2009, 361, 1164-72.
- [54] WANG Y., DIGIOVANNA J.J., STERN J.B., et al. — Evidence of ultraviolet type mutations in xeroderma pigmentosum melanomas. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 2009, 106, 6279-84.
- [55] KRAEMER K.H., LEE M.M., ANDREWS A.D., LAMBERT W.C. — The role of sunlight and DNA repair in melanoma and nonmelanoma skin cancer. The xeroderma pigmentosum paradigm. *Arch. Dermatol.*, 1994, 130, 1018-21.
- [56] Sanger Institute Catalogue of Somatic Mutations in Cancer. [En ligne]. 2008 [consulté en juillet 2013]. Disponible sur <http://www.sanger.ac.uk/perl/genetics/CGP/cosmic>
- [57] KRAUTHAMMER M., KONG Y., HA B.H., et al. — Exome sequencing identifies recurrent somatic RAC1 mutations in melanoma. *Nat. Genet.*, 2012, 44, 1006-14.
- [58] HODIS E., WATSON I.R., KRYUKOV G.V., et al. — A landscape of driver mutations in melanoma. *Cell.*, 2012, 150, 251-63.
- [59] KOWALCZUK C., PRIESTNER M., BALLER C., et al. — Effect of increased intracellular melanin concentration on survival of human melanoma cells exposed to different wavelengths of UV radiation. *Int. J. Radiat. Biol.*, 2001, 77, 883-889.
- [60] WEI Q.Y., LEE J.E., GERSHENWALD J.E., et al. — Repair of UV light-induced DNA damage and risk of cutaneous malignant melanoma. *J. Natl. Cancer Inst.*, 2003, 95, 308-15.
- [61] MEYSKENS F.L., FARMER P., FRUEHAUF J.P. — Redox regulation in human melanocytes and melanoma. *Pigm. Cell. Res.*, 2001, 14, 148-54.
- [62] MITRA D., LUO X., MORGAN A., et al. — An ultraviolet-radiation independent pathway to melanoma carcinogenesis in the red hair/fair skin background. *Nature.*, 2012, 491, 449-53.
- [63] NOONAN F.P., ZAIDI M.R., WOLNICKA-GLUBISZ A. et al. — Melanoma induction by ultraviolet A but not ultraviolet B radiation requires melanin pigment. *Nat. Commun.*, 2012, 3, 884-92.
- [64] COTTER M.A., THOMAS J., CASSIDY P., et al. — N-acetylcysteine protects melanocytes against oxidative stress/damage and delays onset of ultraviolet-induced melanoma in mice. *Clin. Cancer Res.*, 2007, 13, 5952-8.
- [65] WEI X., WALIA V., LIN J.C., et al. — Exome sequencing identifies GRIN2A as frequently mutated in melanoma. *Nat. Genet.*, 2011, 43, 442-6.
- [66] PLEASANCE E.D., CHEETHAM R.K., STEPHENS P.J., et al. — A comprehensive catalogue of somatic mutations from a human cancer genome. *Nature.* 2010, 463, 191-6.
- [67] LOOKINGBILL D.P., LOOKINGBILL G.L., LEPPARD B. — Actinic damage and skin cancer in albinos in northern Tanzania: findings in 164 patients enrolled in an outreach skin care program. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 1995, 32, 653-8.
- [68] TADOKORO T., KOBAYASHI N., ZMUDZKA B.Z., et al. — UV-induced DNA damage and melanin content in human skin differing in racial/ethnic origin. *FASEB J.*; 2003, 17, 1177-9.
- [69] TADOKORO T., YAMAGUCHI Y., BATZER J., et al. — Mechanisms of skin tanning in different racial/ethnic groups in response to ultraviolet radiation. *J. Invest. Dermatol.*, 2005, 124, 1326-33.
- [70] DEL BINO S., SOK J., BESSAC E., et al. — Relationship between skin response to ultraviolet exposure and skin color type. *Pigment Cell. Res.*, 2006, 19, 606-14.
- [71] GIDANIAN M., MENTELLE F., MEYSKENS L., FARMER P.J. — Melanosomal damage in normal human melanocytes induced by UVB and metal uptake — A basis for the pro-oxidant state of melanoma. *Photochem Photobiol.*, 2008, 84, 556-64.

- [72] PARK H.Y., KOSMADAKI M., YAAR M., GILCHREST B.A. — Cellular mechanisms regulating human melanogenesis. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2009, 66, 1493-506.
- [73] SMIT N.P., VAN NIEUWPOORT F.A., MARROT L., OUT C., et al. — Increased melanogenesis is a risk factor for oxidative DNA damage — study on cultured melanocytes and atypical nevus cells. *Photochem Photobiol.*, 2008, 84, 550-5.
- [74] PANZELLA L., LEONE L., GRECO G., et al. — Red human hair pheomelanin is a potent pro-oxidant mediating UV-independent contributory mechanisms of melanomagenesis. *Pigment Cell. Melanoma Res.*, 2014, 27(2), 244-52.
- [75] LEA C.S., SCOTTO J.A., BUFFLER P.A., et al. — Ambient UVB and melanoma risk in the United States: a case-control analysis. *Ann. Epidemiol.*, 2007, 17, 447-53.
- [76] JENKINS N.C., GROSSMAN D. — Role of melanin in melanocyte dysregulation of reactive oxygen species. *Biomed. Res. Int.*, 2013, 1, 908-11.
- [77] CAO J., WAN L., HACKER E., et al. — MC1R is a potent regulator of PTEN after UV exposure in melanocytes. *Mol. Cell.*, 2013, 51, 409-22.
- [78] MIYAMURA Y., COELHO S.G., SCHLENZ K., et al. — The deceptive nature of UVA tanning versus the modest protective effects of UVB tanning on human skin. *Pigment Cell & Melanoma Res.*, 2011, 24, 136-47.
- [79] MAEDA K., HATAO M. — Involvement of photooxidation of melanogenic precursors in prolonged pigmentation induced by ultraviolet A. *J. Invest. Dermatol.*, 2004, 122, 503-9.
- [80] GREEN A., WILLIAMS G., NEALE R., HART V., LESLIE D., PARSONS P., et al. — Daily sunscreen application and betacarotene supplementation in prevention of basal-cell and squamous-cell carcinomas of the skin: a randomised controlled trial. *Lancet.* 1999, 28, 723-9.
- [81] DARLINGTON S., WILLIAMS G., NEALE R., FROST C., GREEN A. — A randomized controlled trial to assess sunscreen application and beta carotene supplementation in the prevention of solar Kerasotes. *Arch. Dermatol.*, 2003, 139, 451-5.
- [82] ULRICH C., JÜRGENSEN J.S., DEGEN A., HACKETHAL M., ULRICH M., PATEL M.J., et al. — Prevention of non-melanoma skin cancer in organ transplant patients by regular use of a sunscreen: a 24 months, prospective, case-control study. *Br. J. Dermatol.*, 2009, 161 Suppl 3, 78-84.
- [83] GREEN A.C., WILLIAMS G.M., LOGAN V. — Strutton GM. Reduced melanoma after regular sunscreen use: randomized trial follow-up. *J. Clin. Oncol.*, 2011, 29, 257-63.
- [84] WANG S.Q., LIM H.W. — Current status of the sunscreen regulation in the United States: 2011 Food and Drug Administration's final rule on labelling and effectiveness testing. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 2011, 65, 863-9.
- [85] EL GHISSASSI F., BAAN R., STRAIF K., et al. — A review of human carcinogens—part D: radiation. *Lancet Oncol.*, 2009, 10, 751-2.
- [86] BONIOL M., AUTIER P., BOYLE P., GANDINI S. — Cutaneous melanoma attributable to sunbed use: systematic review and meta-analysis. *BMJ.* 2012, 24, 345-53.
- [87] International Agency for Research on Cancer (IARC). Exposure to artificial UV radiation and skin cancer. IARC working group reports No 1. IARC, 2006.

