FOTOKER®

TRAITEMENT PRÉVENTIF DES KÉRATOSES ACTINIQUES

LES DOMMAGES DE L'ADN

CONSÉQUENCES
MÉCANISMES DE RÉPARATION

SCHÉMAS COMMENTÉS

Pr Brigitte Dreno, Pr François Aubin et Pr Jean-Luc Schmutz

avec la contribution du Dr Michel Le Maître et du Dr Aurelie Acher

Document édité par
les Laboratoires Moulin Royal Cosmetics

LABORATOIRES
MOULIN ROYAL
COSMETICS

12, rue A. Fleming, 14200 Hérouville St-Clair - contact@moulinroyal.com - 02.31.44.46.51

ÉDITORIAL

Les photoprotecteurs représentent une première ligne de défense contre les dégâts cellulaires que peuvent induire UVB et UVA au niveau des gènes des cellules de l'épiderme. Mais cet effet « préventif » n'est malheureusement que partiel et ne peut empêcher complètement le développement de mutations au niveau des cellules de la peau dont la traduction clinique sera dans le temps entre autre la formation des kératoses actiniques, voire de carcinomes cutanés.

Un nouveau concept propose de renforcer cette photoprotection par une réparation en parallèle des dégâts nucléaires induits par les UVB, qui ont échappé à la vigilance du filtre solaire et ont pu ainsi atteindre l'ADN cellulaire. Ceci est le rôle d'enzymes dites « réparatrices de l'ADN cellulaire ».

Ces enzymes réparatrices sont présentes dans les bactéries, les levures, mais aussi les plantes et certains animaux. Ainsi, la photolyase participe à ce processus de réparation de l'ADN en agissant sur les dimères de pyrimidine formés par les UVB, et qui représentent la première étape de la formation des mutations au sein des cellules de l'épiderme.

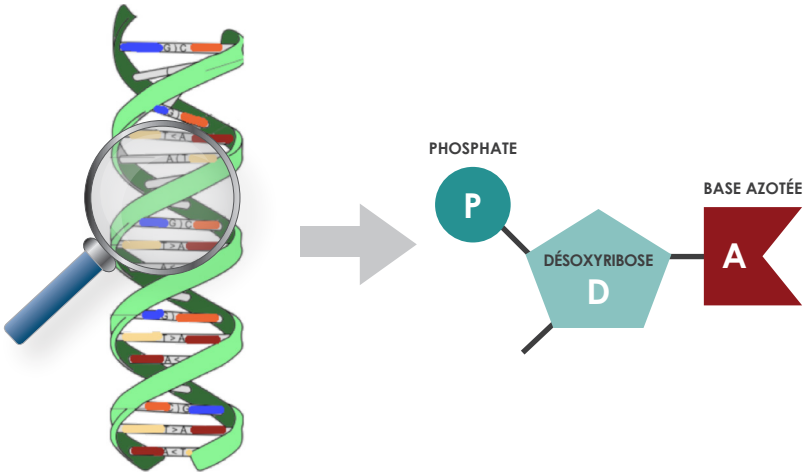
Fotoker, en apportant à la fois un filtre 50+ et une photolyase, vise ainsi à apporter une double action préventive pour les cellules de l'épiderme : limiter la pénétration des UV par un filtre solaire et agir précocement sur la réparation des altérations cellulaires induites par les UVB qui ont échappé à la première ligne de défense.

C'est une nouvelle génération de photoprotecteurs qui se développe, et dont l'intérêt apparait certain pour nous dermatologues, à un moment où le vieillissement de la population nous amène à être confronté dans les prochaines années à une augmentation très importante de la prise en charge des kératoses actiniques et des carcinomes cutanés.

Pr Brigitte Dréno

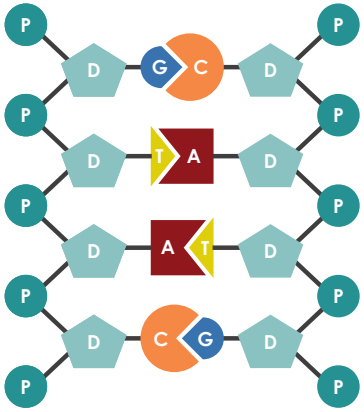
1. L'ADN

Les bases



Adénine avec Thymine
Thymine avec Adénine

Cytosine avec Guanine
Guanine avec Cytosine



La structure standard de l'ADN est une **double-hélice** droite, composée de **deux brins complémentaires**.

Chaque brin d'ADN est constitué d'un enchaînement de **nucléotides**, eux-mêmes composés de **bases azotées**, d'**oses** (désoxyribose) et de **groupes phosphate.**

1. L'ADN

Types d'altérations de l'ADN

Sous l'influence des activités métaboliques normales et de facteurs environnementaux : radiations ultraviolettes, rayonnements ionisants, espèces réactives de l'oxygène).

Des centaines de milliers de cellules cutanées sont attaquées chaque jour :

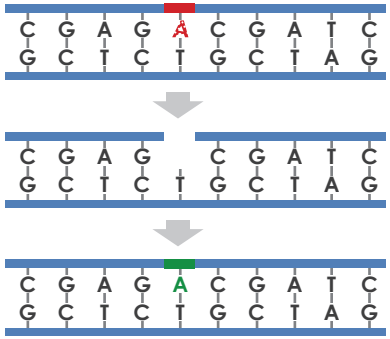
- Perte d'une base : site apurique ou apyrimidique.
- Modification des bases :
  - Désamination
  - Oxydation
  - Dimères de pyrimidine.
- Erreurs de réplication : mismatch.

Les mécanismes de réparation de l'ADN

1 RÉPARATION PAR EXCISION DE BASES

Réparation d'un dommage au niveau d'une base individuelle de l'ADN :

- Excision de la base de son nucléotide par un glycosylase : clivage du désoxyribose.
- Nouvelle synthèse.



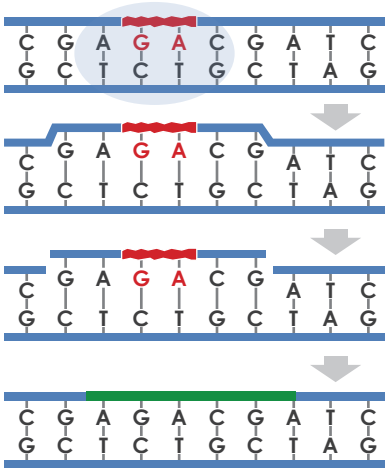
2 RÉPARATION PAR EXCISION DE NUCLÉOTIDES

1. Détection de la lésion de l'ADN.

2. Déroulement de l'ADN entourant la région lésée (complexe TFIIH).

3. Endonucléases (ERCC1-XPF et XPG):
▶ **Coupure simple brin** aux extrémités du site endommagé

4. ADN polymérase :
▶ **Réparation du site vacant** par les nucléotides adéquats.



PATHOLOGIES CUTANÉES LIÉES À DÉFAUT DE NER :
XERODERMA PIGMENTOSUM ■ SYNDROME DE COCKAYNE ■ TRICHOTHIODYSTROPHIE

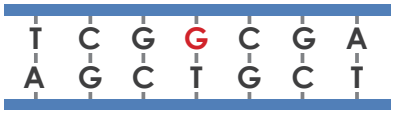
3 RÉPARATION DES MÉSAPPARIEMENTS (MMR)

Les mésappariements correspondent à des appariements par erreurs de deux bases non complémentaires.

Le système d'excision/réparation permet la réparation spécifique de ces mésappariements.

- Reconnaissance par la cellule du mésappariement
- Excision de la base défectueuse
- Remplacement par la bonne base

Chez l'homme, ce mécanisme est sous la dépendance des gènes hMLH1 ou hMSH2.



PATHOLOGIE CUTANÉE LIÉE À DÉFAUT DE MMR :
SYNDROME DE MUIR-TORR

Pathologies cutanées provoquées par une anomalie génétique de la réparation de l'ADN

1 XERODERMA PIGMENTOSUM

- **Transmission** : autosomique récessive
- **Mutations de 8 gènes impliqués dans la réparation de l'ADN.**
  - Sept d'entre eux, XPA à XPG (ERCC5), impliqués dans NER.
  - Le gène XPV code pour une ADN polymérase à réplication de l'ADN endommagé par les UV.
- **Sensibilité au soleil, éphélides**
- **Avant l'âge de 20 ans**
  - Risque de carcinome x 10 000
  - Risque de mélanome x 2000

2 SYNDROME DE COCKAYNE

- **Maladie multisystémique**
  - Retard staturo-pondéral
  - Dysmorphie faciale
  - Photosensibilité
  - Troubles neurologiques progressifs et un déficit intellectuel.
  - Des mutations ont été identifiées au niveau des gènes ERCC6 (CSB; 10q11) et ERCC8 (CSA; 5q12.1)

3 TRICHOTHIODYSTROPHIE

- **Cheveux courts, épars, fragiles, pauvres en soufre** (synthèse anormale de sulfure)
- **Photosensibilité**
- **Souvent**
  - Ichtyose congénitale
  - Déficit intellectuel
  - Retard de croissance
- **Mutations du gène XPD (ERCC2),** localisé en 19q13.2-q13.3. (95% des cas)

1. L'ADN

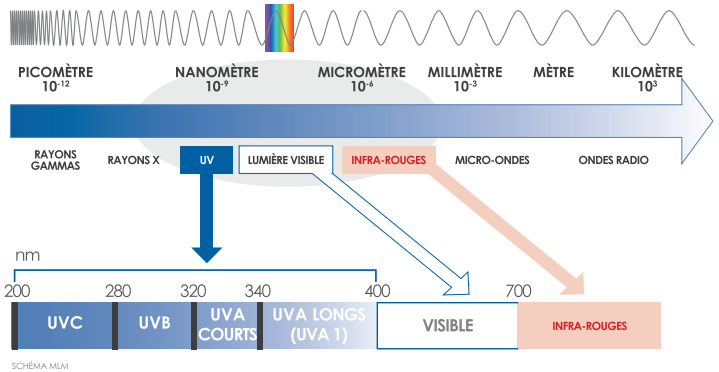
Pathologie cutanée provoquée par les mutations des gènes MMR

SYNDROME DE MUIR-TORRE
CANCER COLO-RECTAL SANS POLYPOSE (HNPCC)

- Transmis sur un mode dominant
- Prédisposition à des tumeurs cutanées
  - Adénomes et carcinomes sébacés
  - Carcinomes basocellulaires
  - Kératoacanthomes
- Mutations des gènes de réparation de l'ADN mésappari (hMLH1 ou hMSH2).
- Forme allélique du cancer colorectal héréditaire sans polypose (HNPCC).

2. UV ET ADN

L'agression des UV

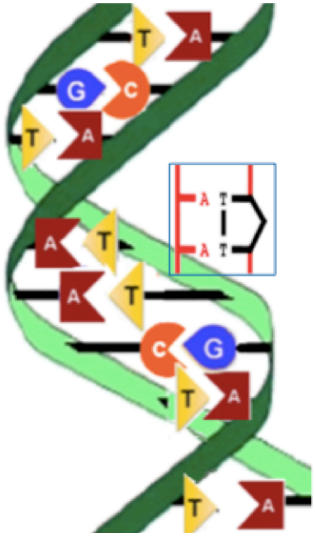


- Plus la longueur d'onde est courte, plus l'énergie est importante : l'énergie des UVB est plus importante que celle des UVA.
- Plus la longueur d'onde est longue plus la pénétration du rayonnement est profonde : les UVA pénètrent jusqu'au derme alors que les UVB s'arrêtent à la base de l'épiderme.

1 ACTIONS GÉNOTOXIQUES DES UV : ACTION DIRECTE DES UVB

UVB absorbé directement par l'ADN

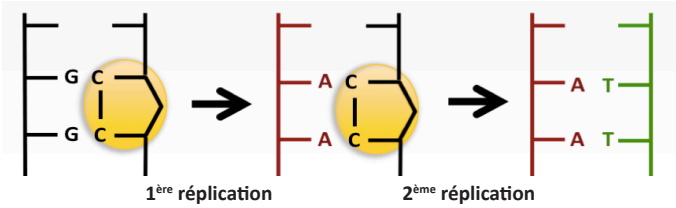
- Formation d'un cycle cyclobutane entre deux bases pyrimidiques voisines (thymine ou cytosine) : Dimères cyclobutane de pyrimidine (CPDs)
- Conséquences :
  - Déformation et rigidification de la double hélice d'ADN
  - Interférence sur la réplication et la transcription
  - Mutations (gènes +/- sensibles aux UV)
- Il existe d'autres dommages des UV au niveau de l'ADN : les photoproduits de pyrimidine (6-4) pyrimidone (6-4PP)



CPDs = signature des UV
(surtout UVB)

2. UV ET ADN

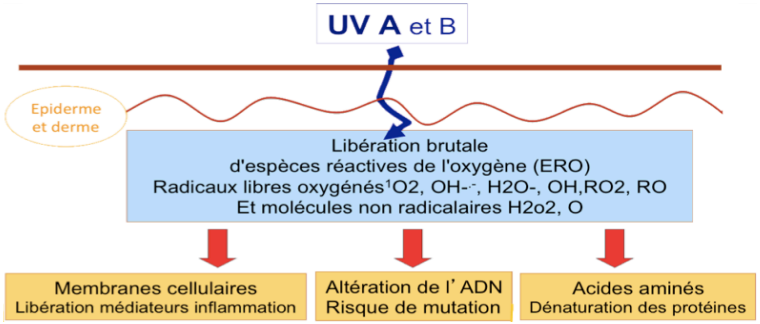
2 CONSÉQUENCE DE LA PRÉSENCE DE DIMÈRE DE PYRIMIDINE AU MOMENT DE LA RÉPLICATION DE L'ADN



L'ADN polymérase ne reconnaît pas les deux bases C-C liées et les remplace par A (insertion par défaut d'une base Adénine).

On a donc à la 2ème réplication CC > TT (spécifique aux UV).

3 EFFET OXYDANT DES UV : LE STRESS OXYDATIF
(ESSENTIELLEMENT LES UVA)



La rencontre des photons avec les macromolécules aboutit à la **libération abondante et brutale** d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) : **stress oxydatif**. Ce sont des molécules extrêmement réactives, de puissants agresseurs oxydants. Les réactions conduites par les EROs sont habituellement des réactions en chaîne. Les receveurs d'électrons comme la molécule d'oxygène sont prêts à réagir avec les radicaux libres pour devenir à leur tour des radicaux libres.

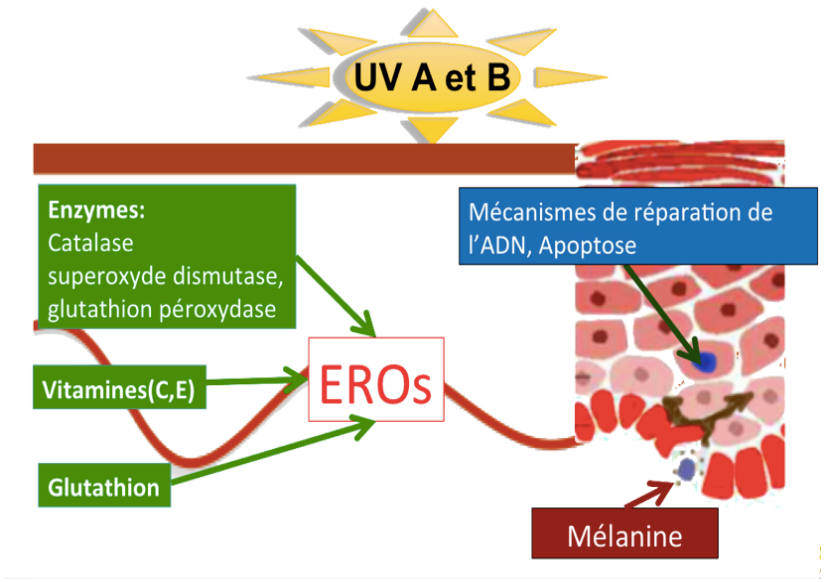
Les cibles des espèces réactives de l'oxygène sont :

- **L'ADN :** modification du matériel génétique et risque de mutation
- **Les membranes cellulaires** libérant ainsi des médiateurs de l'inflammation
- **Les acides aminés** conduisant à une dénaturation des protéines avec perturbation de leur activité.

2. UV ET ADN

Les mécanismes de défense naturels

1 LA MÉLANINE, LES ENZYMES ET LES MOLÉCULES CAPTANT LES EROs



Il existe un équilibre entre la production de radicaux libres et leur élimination. Les principaux systèmes de défense naturels sont :

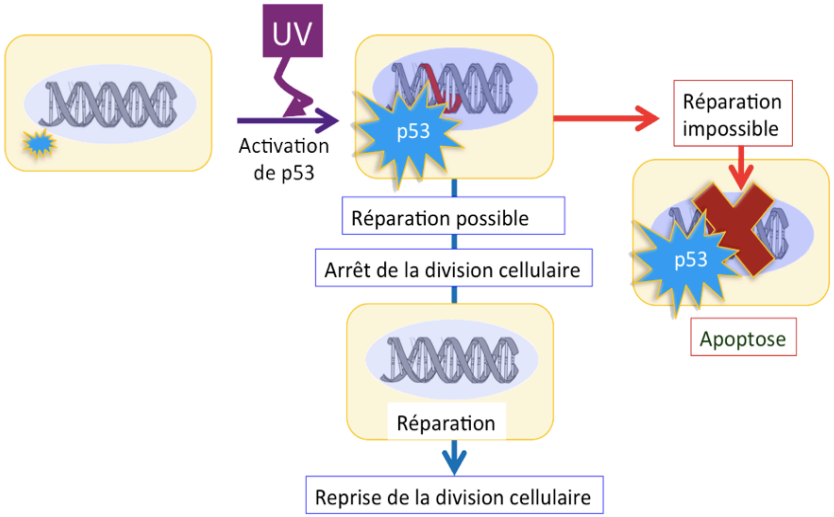
- **La mélanine** est un bouclier protecteur de l'ADN (elle plus efficace dans les phototypes foncés)
- **Les systèmes de défense contre le stress oxydatif :**
  - **Enzymes** : Catalase, superoxyde dismutase, glutathion péroxydase
  - **Molécules captant les EROs** : Vitamine C, E , glutathion

Après irradiation UV, on observe une **réponse des systèmes antioxydants.** Si les irradiations se poursuivent, les capacités d'adaptation seront dépassées. Les mécanismes de réparation de l'ADN (cf. BER,NER,MMR.) sont mis en jeu.

L'Apoptose cellulaire (« suicide cellulaire ») se declenche lorsque tous les systèmes de défense ont failli. **Elle permet ainsi d'éliminer les cellules trop altérées.**

2. UV ET ADN

2 LA PROTÉINE P53 : LA GARDIENNE DU GÉNOME



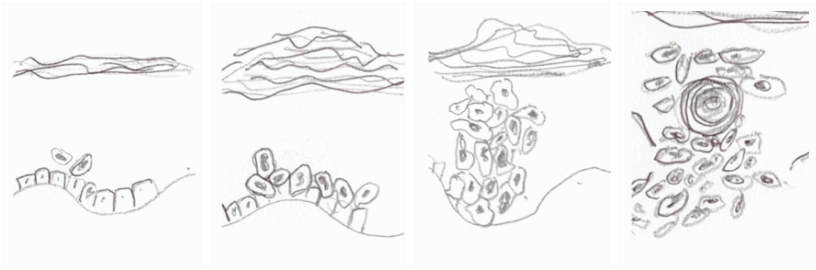
Le gène de la protéine p53 est un gène suppresseur permettant la mise en activité des systèmes de réparation de l'ADN.

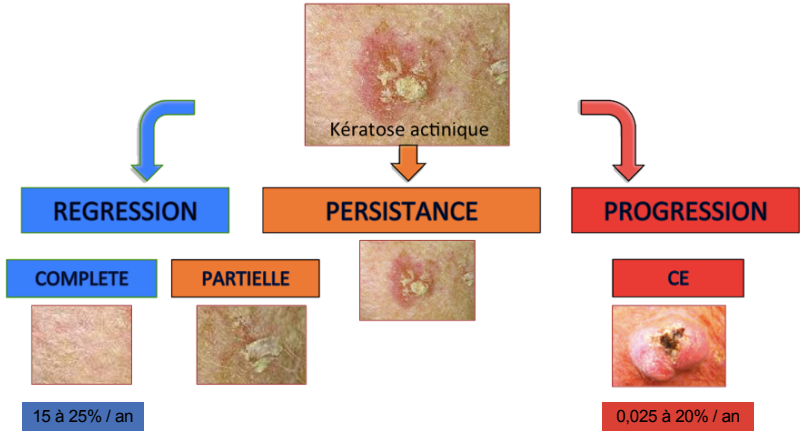
- La protéine p53 s'active quand la cellule est attaquées par les UV en arrêtant la division cellulaire, la cellule est mise au repos ce qui permet la mise en place des mécanismes de réparation.
- Un fois ces réparations effectuées la cellule peut se diviser à nouveau normalement.
- Si la réparation est impossible le mécanisme de l'apoptose s'enclenche.

3. LES KÉRATOSES ACTINIQUES

Les mécanismes d'apparition des kératoses actiniques

1 KÉRATOSE ACTINIQUE ET CARCINOME ÉPIDERMOÏDE

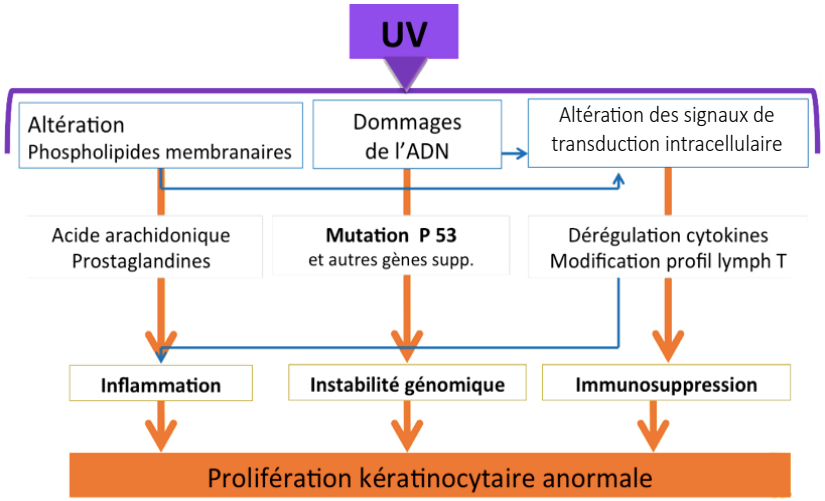
PAS DE LÉSION VISIBLE	KÉRATOSE ACTINIQUE PLUS OU MOINS ÉPAISSE		CARCINOME ÉPIDERMOÏDE
			
Quelques atypies cellulaires localisées	Hyperkératose Désorganisation de quelques kératinocytes (chevauchement, noyaux irréguliers)	Désorganisation des kératinocytes et atypies sur toute l'épaisseur de l'épiderme	Travées épithéliomateuses dans le derme (franchissement de la jonction dermo-épidermique)



KA précurseurs d'au moins 60 % des CSC1.
Si +10 KA : risque de CSC au cours de la vie évalué à 9,6%[3].

2 MÉCANISMES D'ACTION DES UV

LES MUTATIONS DU GÈNE DE LA P53



Les mutations du gène de la p53 et d'autres gènes suppresseurs sont un des éléments importants dans la carcinogénèse conduisant à la prolifération cellulaire anormale.

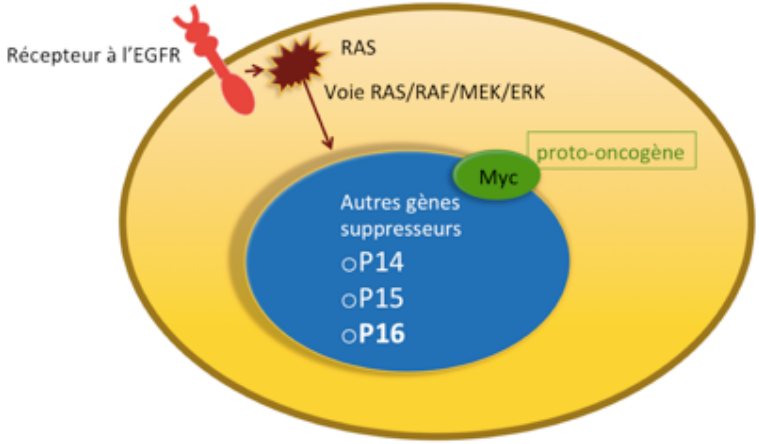
C'est la conséquence directe des altérations de l'ADN et de la formation des CPDs.

- La mutation du gène de la protéine p53 intervient dans 90% des CSC et dans 75% des KA.
- L'altération des signaux de transduction cellulaire va conduire à la dérégulation des cytokines et à l'immunosuppression. L'inflammation déclenchée par l'atteinte des membranes cellulaires qui conduit à l'activation des prostaglandines est aussi accentuée par la dérégulation des cytokines.

MUTATION : rôle des dimères cyclobutane de pyrimidine (CPDs)

Les CPDs sont à l'origine de la majorité des mutations de l'ADN dans la kératinocyte.

ALTÉRATION D'AUTRES GÈNES CLÉS : PHASE DE PROMOTION



Induction par les UV de mutations de gènes impliqués dans le cycle cellulaire:

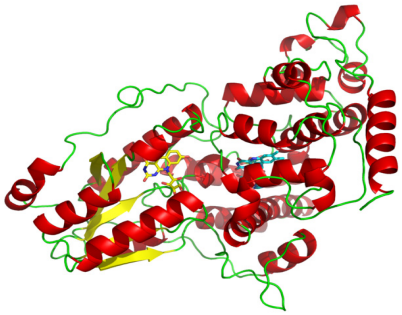
- D'autres gènes suppresseurs de tumeurs codant pour P14, P15, P16
- De proto-oncogènes
  - Myc proto-oncogène
  - Gène du Récepteur à l'EGFR (stimulation voie RAS)

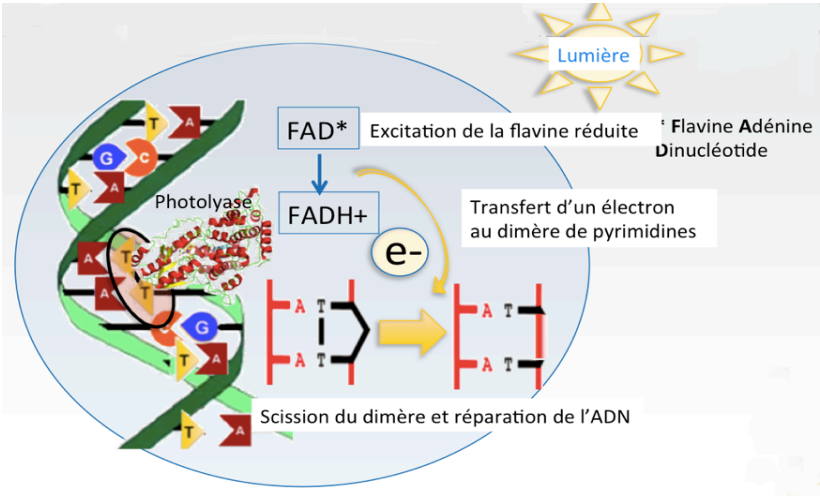
4. LA PHOTOLYASE

La photolyase : réparation directe des dimères de pyrimidine

Il s'agit d'une flavo-enzyme permettant la réparation directe des dimères de pyrimidines

- Elle est présente :
  - Chez les procaryotes (organisme unicellulaire sans noyau : bactéries)
  - Chez des nombreux eucaryotes : levures, plantes, certains animaux mais pas les mammifères placentaires.
- Elle est absente chez l'homme.





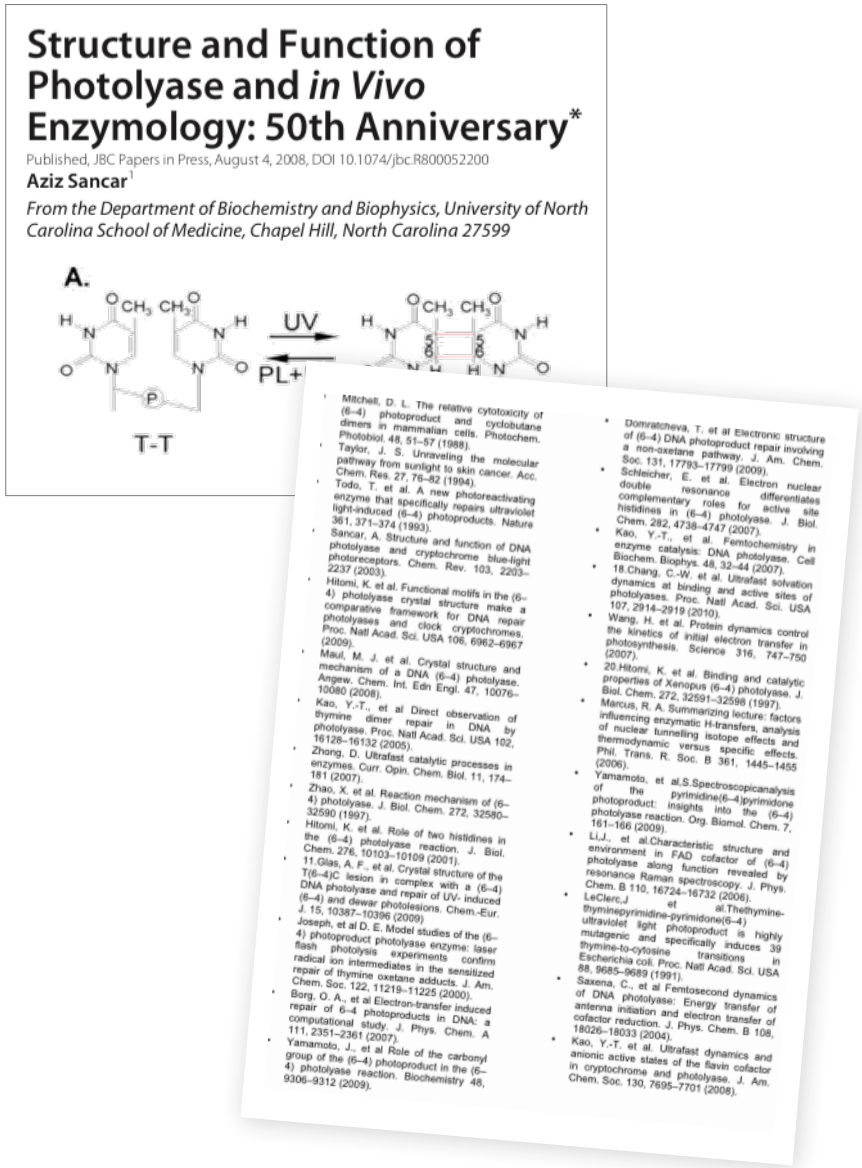
La photolyase est une enzyme qui répare de manière spécifique les dimères de pyrimidine (dimères de thymine et de cytosine) causés dans l'ADN par les ultraviolets.

Elle agit **sous l'action d'une lumière bleue ou UV** proche, qui excite un cofacteur : la flavine réduite. Celle-ci perd un électron FAD > FADH+. Cet électron est alors transféré au dimère de pyrimidine, ce qui entraîne la scission de ce dernier et permet ainsi la **réparation de l'ADN**.

Ce mécanisme très rapide, de l'ordre de la pico seconde.

4. LA PHOTOLYASE

La Photolyase a fait l'objet de nombreux travaux depuis 50 ans



Structure and Function of Photolyase and *in Vivo* Enzymology: 50th Anniversary*

Published, JBC Papers in Press, August 4, 2008, DOI 10.1074/jbc.R800052200

Aziz Sancar[1]

From the Department of Biochemistry and Biophysics, University of North Carolina School of Medicine, Chapel Hill, North Carolina 27599

A.

UV

PL+

T-T

Mitchell, D. L. The relative cytotoxicity of (6–4) photoproduct and cyclobutane dimers in mammalian cells. Photochem. Photobiol. 48, 51–57 (1988).
Taylor, J. S. Unraveling the molecular pathway from sunlight to skin cancer. Acc. Chem. Res. 27, 76–82 (1994).
Todo, T. et al. A new photoreactivating enzyme that specifically repairs ultraviolet light-induced (6–4) photoproducts. Nature 361, 371–374 (1993).
Sancar, A. Structure and function of DNA photolyase and cryptochrome blue-light photoreceptors. Chem. Rev. 103, 2203–2237 (2003).
Hitomi, K. et al. Functional motifs in the (6–4) photolyase crystal structure make a comparative framework for DNA repair photolyases and clock cryptochromes. Proc. Natl Acad. Sci. USA 106, 6962–6967 (2009).
Maul, M. J. et al. Crystal structure and mechanism of a DNA (6–4) photolyase. Angew. Chem. Int. Edn Engl. 47, 10076–10080 (2008).
Kao, Y.-T., et al Direct observation of thymine dimer repair in DNA by photolyase. Proc. Natl Acad. Sci. USA 102, 16128–16132 (2005).
Zhong, D. Ultrafast catalytic processes in enzymes. Curr. Opin. Chem. Biol. 11, 174–181 (2007).
Zhao, X. et al. Reaction mechanism of (6–4) photolyase. J. Biol. Chem. 272, 32580–32590 (1997).
Hitomi, K. et al. Role of two histidines in the (6–4) photolyase reaction. J. Biol. Chem. 276, 10103–10109 (2001).
11.Glas, A. F., et al. Crystal structure of the T(6–4)C lesion in complex with a (6–4) DNA photolyase and repair of UV- induced (6–4) and dewar photolesions. Chem.-Eur. J. 15, 10387–10396 (2009)
Joseph, et al D. E. Model studies of the (6–4) photoproduct photolyase enzyme: laser flash photolysis experiments confirm radical ion intermediates in the sensitized repair of thymine oxetane adducts. J. Am. Chem. Soc. 122, 11219–11225 (2000).
Borg, O. A., et al Electron-transfer induced repair of 6–4 photoproducts in DNA: a computational study. J. Phys. Chem. A 111, 2351–2361 (2007).
Yamamoto, J., et al Role of the carbonyl group of the (6–4) photoproduct in the (6–4) photolyase reaction. Biochemistry 48, 9306–9312 (2009).
Domratcheva, T. et al Electronic structure of (6–4) DNA photoproduct repair involving a non-oxetane pathway. J. Am. Chem. Soc. 131, 17793–17799 (2009).
Schleicher, E. et al. Electron nuclear double resonance differentiates complementary roles for active site histidines in (6–4) photolyase. J. Biol. Chem. 282, 4738–4747 (2007).
Kao, Y.-T., et al. Femtochemistry in enzyme catalysis: DNA photolyase. Cell Biochem. Biophys. 48, 32–44 (2007).
18.Chang, C.-W. et al. Ultrafast solvation dynamics at binding and active sites of photolyases. Proc. Natl Acad. Sci. USA 107, 2914–2919 (2010).
Wang, H. et al. Protein dynamics control the kinetics of initial electron transfer in photosynthesis. Science 316, 747–750 (2007).
20.Hitomi, K. et al. Binding and catalytic properties of Xenopus (6–4) photolyase. J. Biol. Chem. 272, 32591–32598 (1997).
Marcus, R. A. Summarizing lecture: factors influencing enzymatic H-transfers, analysis of nuclear tunnelling isotope effects and thermodynamic versus specific effects. Phil. Trans. R. Soc. B 361, 1445–1455 (2006).
Yamamoto, et al.S.Spectroscopicanalysis of the pyrimidine(6–4)pyrimidone photoproduct: insights into the (6–4) photolyase reaction. Org. Biomol. Chem. 7, 161–166 (2009).
Li,J., et al.Characteristic structure and environment in FAD cofactor of (6–4) photolyase along function revealed by resonance Raman spectroscopy. J. Phys. Chem. B 110, 16724–16732 (2006).
LeClerc,J et al.Thethymine-thyminepyrimidine-pyrimidone(6–4) ultraviolet light photoproduct is highly mutagenic and specifically induces 39 thymine-to-cytosine transitions in Escherichia coli. Proc. Natl Acad. Sci. USA 88, 9685–9689 (1991).
Saxena, C., et al Femtosecond dynamics of DNA photolyase: Energy transfer of antenna initiation and electron transfer of cofactor reduction. J. Phys. Chem. B 108, 18026–18033 (2004).
Kao, Y.-T. et al. Ultrafast dynamics and anionic active states of the flavin cofactor in cryptochrome and photolyase. J. Am. Chem. Soc. 130, 7695–7701 (2008).

4. LA PHOTOLYASE

Quelque exemples ...

Enzyme plus light therapy to repair DNA damage in ultraviolet-B-irradiated human skin

Helger Stege*, Len Roza†, Arie A. Vink†, Markus Grewe*, Thomas Ruzicka*, Susanne Grethe Jean Krutmann*‡

> Ces études démontrent que l'application de photolyase est efficace pour supprimer les dimères de pyrimidines.

ELSEVIER

Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology

Volume 65, Issues 2–3, 31 December 2001, Pages 105–108

Effect of xenogenic repair enzymes on photoimmunology and photocarcinogenesis

Helger Stege

> Photolyase encapsulée dans des liposomes pourra avoir dans un futur proche une utilisation comme ingrédient actif dans des produits de soin modernes.

The inhibition of antigen-presenting activity of dendritic cells resulting from UV irradiation of murine skin is restored by *in vitro* photorepair of cyclobutane pyrimidine dimers

Arie A. Vink*, Angus M. Moodycliffe†, Vijay Shreedhar†, Stephen E. Ullrich†, Len Roza*, Daniel B. Yarosh‡, and Margaret L. Kripke†§

> Action de photolyase + liposome : restauration de l'activité de présentation de l'Antigène des cellules dendritiques.

Stege H1, Roza L,Vink AA, Grewe M, Ruzicka T, Grether-Beck S, Krutmann J.Enzyme. Proc Natl Acad Sci U S A. 2000 Feb 15;97(4):1790-5.
Stege H1. Photochem Photobiol B. 2001 Dec 31;65(2-3):105-8.
ARIE A. & al Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1997 ; 94 : 5255–60

Arie A. & al The inhibition of antigen-presenting activity of dendritic cells resulting from UV irradiation of murine skin is restored by in vitro photorepair of cyclobutane pyrimidine dimers 1997 Proc. Natl. Acad. Sci. USA ; 94 : 5255–5260

Berman et al photobiology of actinic keratosis UV dependent keratinocytes proliferation . J Am Acad Dermatol. 2013 , 68: S10-19

Hosseini M et al Oxidative and Energy Metabolism as Potential Clues for Clinical Heterogeneity in Nucleotide Excision Repair Disorders. J Invest Dermatol. 2014 2015;135 :341-351

Ikehata H, Ono T The Mechanisms of UV Mutagenesis J. Radiat. Res., 2011; 52 : 115–125

Iyama DNA repair mechanisms in dividing and non-dividing cells T, DNA Repair 12 (2013) 620–636

Lelièvre A La voie de signalisation RAS/MAPK Cancéro dig. 2010; 2 : 38-42

Marks R, Rennie G, Selwood TS. Malignant transformation of solar keratoses to squamous cell carcinoma Lancet. 1988; 9:795-7.

Petruseva I.O. and al Molecular Mechanism of Global Genome Nucleotide Excision Repair Acta naturae 2014; 20 23 : 34

Pimentel et al:Reduction p53 staining in actinic Keratosis/ Indian J dermatol 2013 58 (4) 325

Quaedvlieg PJ, Tirsi E, Thissen MR, Krekels GA. Actinic keratosis: how to differentiate the good from the bad ones? EurJ Dermatol. 2006;16: 335-9

Sancar A Structure and Function of Photolyase and in Vivo Enzymology: 50th Anniversary journal of biological chemistry 2008 ; 283, : 32153–57

Stege H . Enzyme plus light therapy to repair DNA damage in ultraviolet-B-irradiated human skin Proc Natl Acad Sci U S A. 2000 15; 97:1790-5.

Warrick E http://biologiedelapeau.fr/ Effets des UV sur l'ADN : lésions et mutationsV. David Editeur(s) : Université de Renneshttp://www.med.univ-rennes

Ziegler A & al Sunburn and p53 in the onset of skin cancer 372:773-6

FOTOKER®

— DISPOSITIF MEDICAL —

TRAITEMENT PRÉVENTIF DES KÉRATOSES ACTINIQUES

> Fotoker®, vers une protection quasi totale du champ de cancérisation.

Indication

- Prévention primaire et secondaire des kératoses actiniques.
- En complément des traitements curatifs (topiques ou physiques) des kératoses actiniques.
- Peut-être appliqué dans les suites d'un traitement par Cryothérapie PDT, Picato®, Aldara®, Solaraze®, Efudix®, ...

En pratique Fotoker®

Deux à trois fois par jour (selon les expositions solaires) sur les zones découvertes et en particulier sur les zones de peau qui sont principalement exposées.