



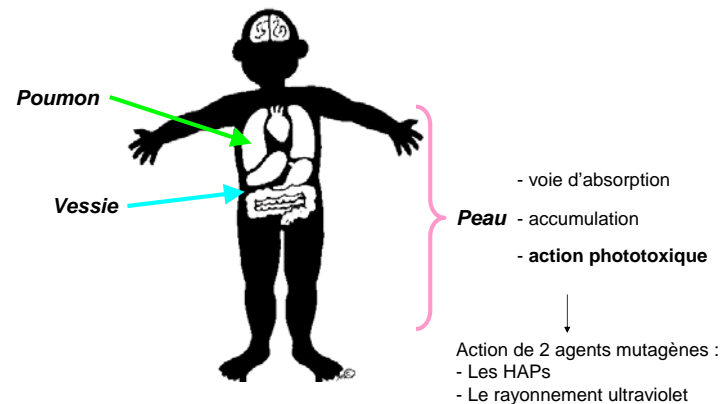
## Effets génotoxiques d'une exposition combinée aux HAP et au rayonnement UV

Thierry Douki(1), Zakaria Ksoury(1), Caroline Marie(1)(2), Jean-Luc Ravanat(1), Anne Maître(2)

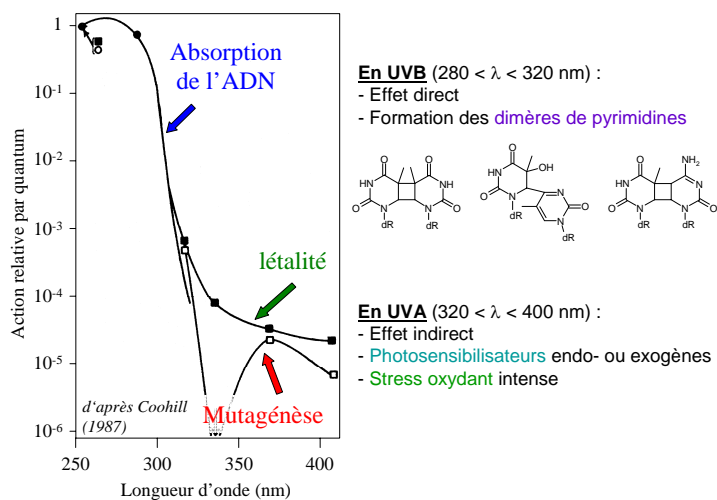
(1) DSM/INAC/SCIB UMR-E 3 CEA-UJF/Laboratoire "Lésions des Acides Nucléiques", CEA-Grenoble, France.

(2) Equipe EPSP, Environnement et prédiction de la santé des populations Laboratoire TIMC (UMR 5525) Faculté de Médecine, La Tronche, France

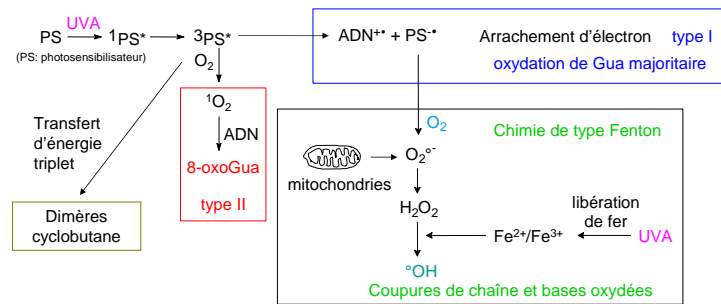
## Les cibles de l'action cancérigène des HAP

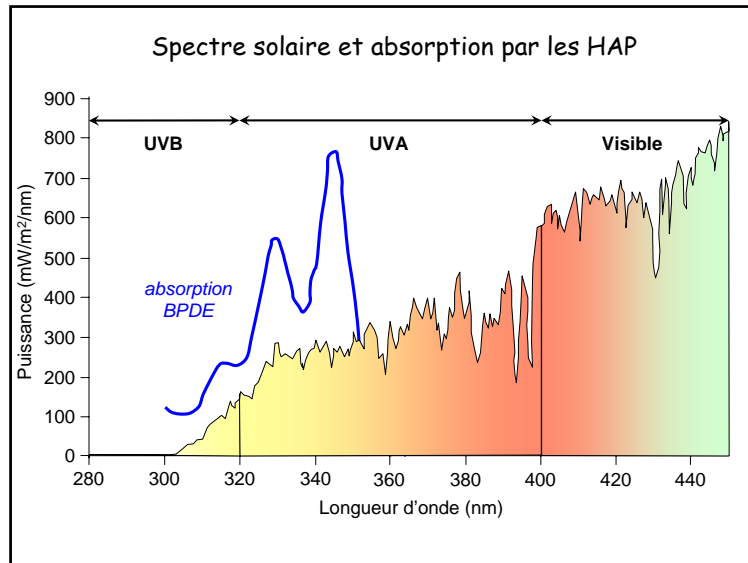


## Effet du rayonnement UV sur des cellules en culture



## Oxydation photosensibilisée de l'ADN par les UVA

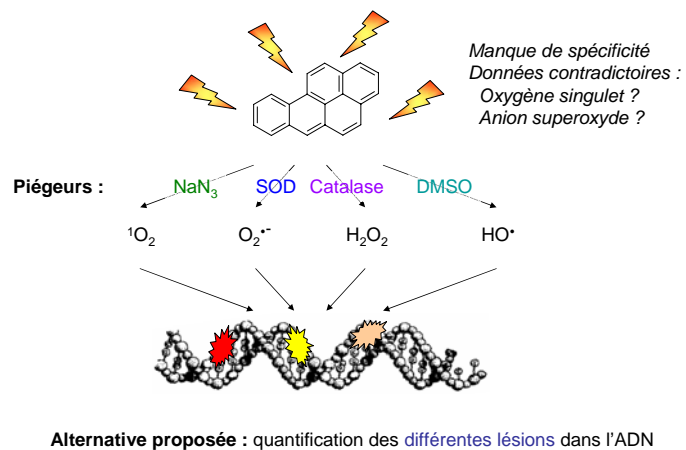




### Evidence de l'action synergique UV/HAP

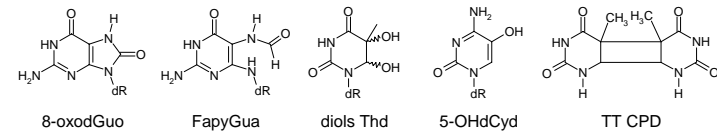
- 5 HAP sur 16 testés **photomutagènes** dans le test d'Ames (dont le BaP)  
(Yan *et al.*, Mutat. Res. 2004)
- Augmentation de la mutagenèse du BPDE et des UVA lors d'un **traitement combiné** (à doses seules non mutagènes) de cellules Big blue mouse  
(Besaratnia *et al.*, Cancer Res. 2003)
- Augmentation du taux de mutation par **transfection de plasmides** traités par du BPDE et des UV (par rapport à BPDE seul)  
(Routledge *et al.*, Carcinogenesis 2001)
- Traitement combiné BaP + UVA **tumorigène** chez la souris  
(Wang *et al.*, Int J Cancer. 2005)
- Induction de **dommages à l'ADN** par UV + BaP/BPDE (cassures de chaîne et 8-oxoGua)  
(Routledge *et al.*, Carcinogenesis 2001; Toyooka *et al.*, FEBS Lett. 2005; Liu *et al.*, Biochemistry 1998; Gao *et al.*, Free Radic. Biol. Med. 2005)

### Identification du mécanisme de photooxydation par les HAP



### La nature des lésions formées comme signature du mécanisme

Quantification de plusieurs **lésions oxydatives** et des **photoproduits bipyrimidiques**

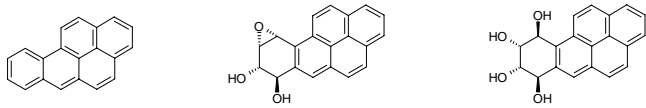


- **Oxygène singulet** : 8-oxo-7,8-dihydroguanine lésion quasi unique
- **Arrachement d'électron** : 8-oxodGuo + FapyGua lésions majoritaires (G base la plus facilement oxydée)
- **Radical °OH** : nombreux types de lésions de G, T A et C
- **Transfert d'énergie triplet** : formation de dimère cyclobutane surtout aux sites TT (pas d'autre type de dimères)

## Procédure expérimentale

1) **ADN génomique isolé** de thymus de veau (sigma) en solution aqueuse

2) HAP étudiés



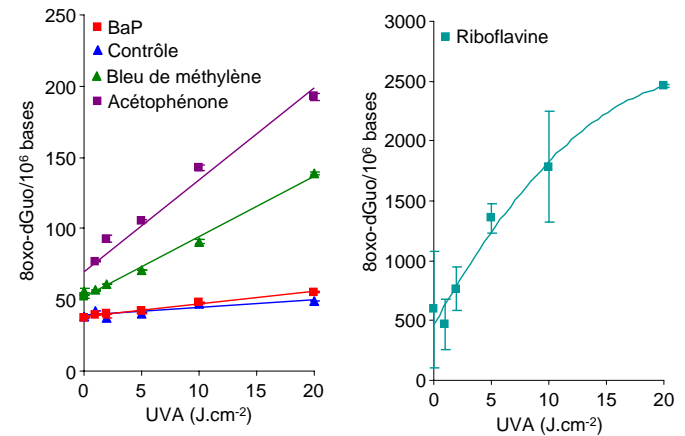
Benzo[a]pyrène (BaP) 7,8-diol-9,10-epoxy-BaP (BPDE) 7,8,9,10-tetraol-BaP (tetraol)

3) Source UV : **lampe UVA** Waldmann 700L (330 nm <math>< \lambda </math>)

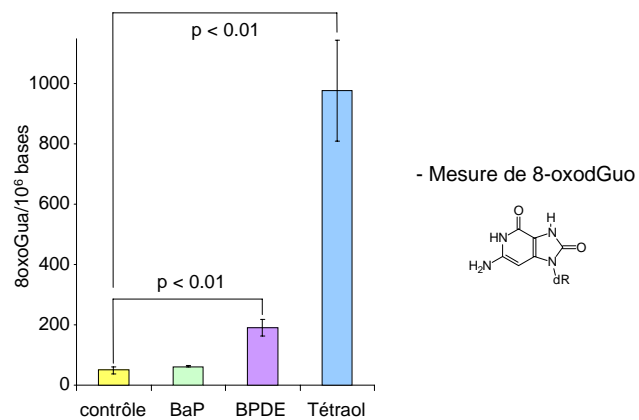
4) **Quantification des bases oxydées** par hydrolyse enzymatique suivi d'une analyse par HPLC couplée à la spectrométrie de masse

## Le BaP, un mauvais photosensibilisateur

ADN 0.1 mg/ml; photosensibilisateurs 10  $\mu$ M; mesure du taux de 8-oxodGuo



## Les dérivés du BaP comme photosensibilisateurs



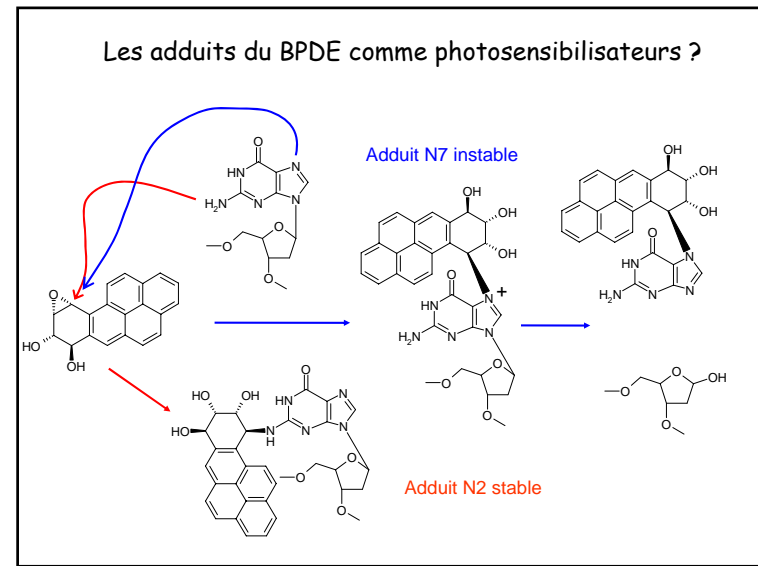
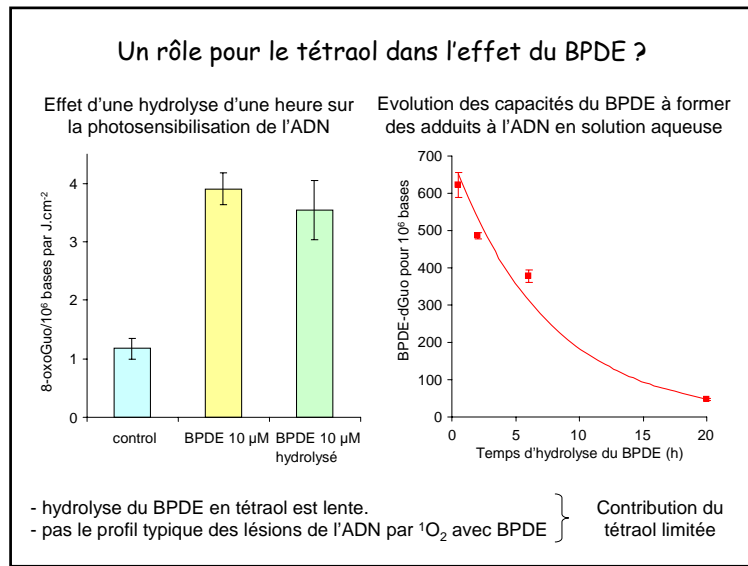
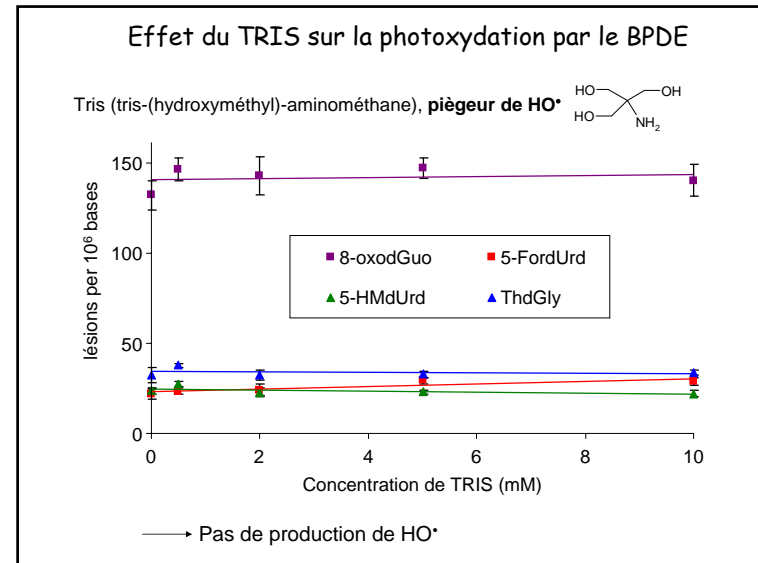
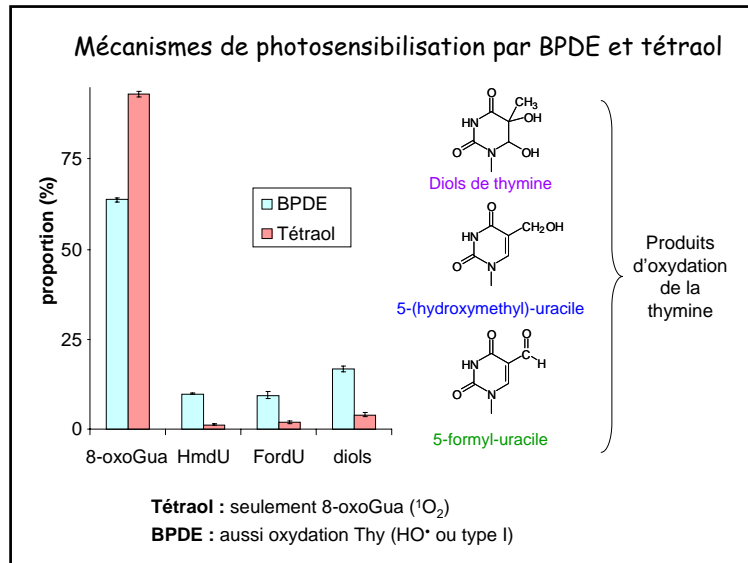
## Aspects quantitatif (mesure de 8-oxodGuo)

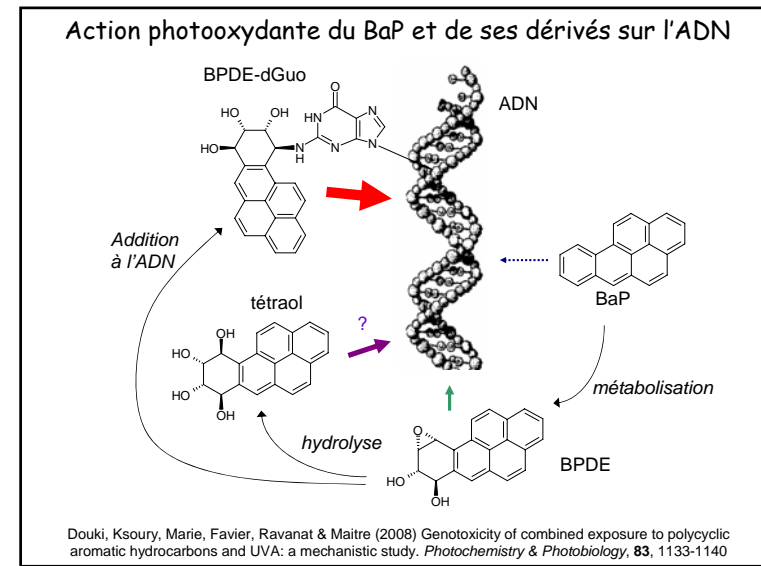
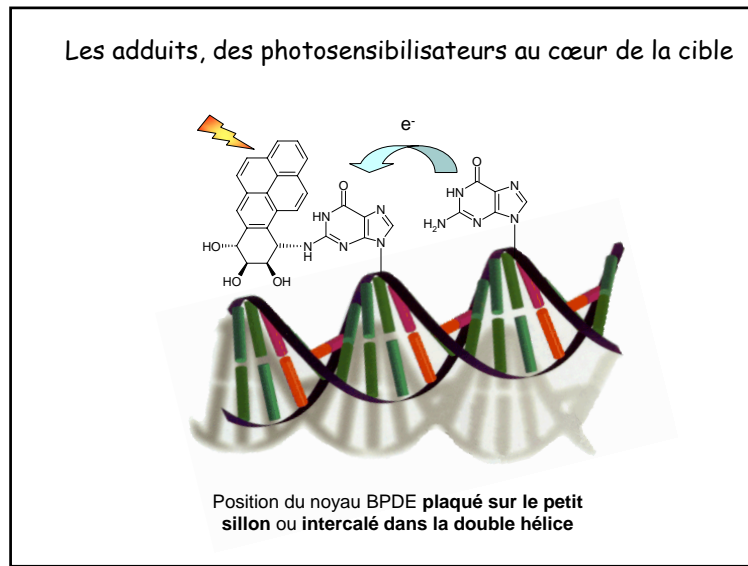
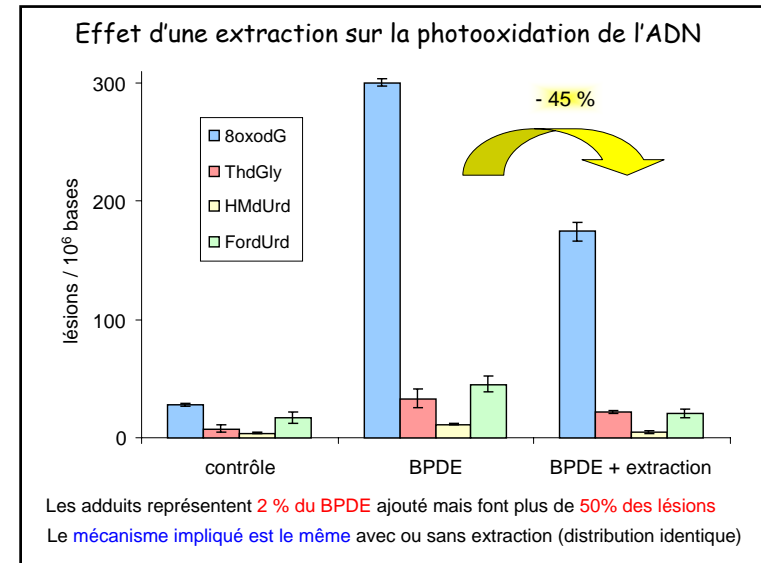
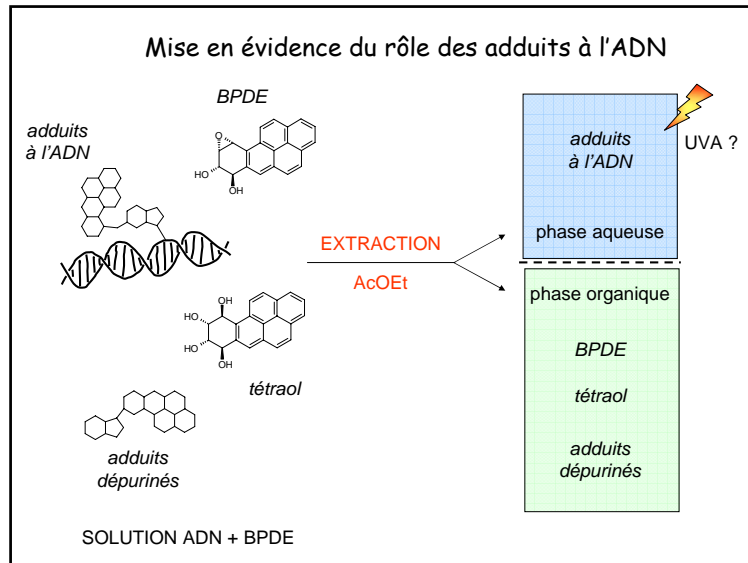
Le BaP est **très peu efficace**

Pour les dérivés : BaP < **BPDE** < **Tétraol**

Quels sont les **modes d'action** impliqués ?

- pas de transfert d'énergie (pas de dimère cyclobutane)
- mécanisme de photooxydation à déterminer





## Perspectives

- Action différentielle des différents diastéréoisomères des adduits
- Action photosensibilisatrice d'adduits d'autres HAP
- Photosensibilisation dans des cellules ou de la peau
- Effet du type cellulaire et des différentes voies de métabolisation du BaP