

## Οι φωτοχημικές βλάβες του DNA και ο ρόλος τους στις βιολογικές επιδράσεις της υπεριώδους ακτινοβολίας στο δέρμα

Η έκθεση του ανθρώπινου δέρματος στην υπεριώδη ακτινοβολία προκαλεί ένα ευρύ φάσμα από κυτταρικές, βιοχημικές και κλινικές μεταβολές, που συντελούνται σε άμεση ή μακροχρόνια βάση. Οι αλλαγές αυτές οφείλονται σε σύνθετους και πολύπληρους μοριακούς μηχανισμούς, με κοινή αφετηρία την απορρόφηση της υπεριώδους ακτινοβολίας από διάφορα χρωμοφόρα μόρια και κυτταρικούς στόχους του δέρματος. Οι φωτοχημικές μεταβολές ενός τέτοιου χρωμοφόρου, του κυτταρικού DNA, οδηγούν στο σχηματισμό σύμπλοκων χημικών ενώσεων μεταξύ των νουκλεοτιδίων, που ονομάζονται φωτοπροϊόντα και απαρτίζονται κυρίως από τα διμερή κυκλοβουτανίου και τις ενώσεις 6-4 πυριμιδίνης-πυριμιδόνης. Η παρουσία των φωτοπροϊόντων αυτών και οι συνεπαγόμενες μεταβολές στη λειτουργία των δερματικών κυττάρων συμμετέχουν, μέσω αδιευκρίνιστων ακόμα μηχανισμών, στην εκδήλωση των οξειών και χρόνιων επιδράσεων της υπεριώδους ακτινοβολίας, όπως το ηλιακό ερύθημα, η μελάγχρωση, η ανοσοκαταστολή και ο καρκίνος του δέρματος. Η παρούσα ανασκόπηση μελετά το ρόλο των φωτοπροϊόντων στις φωτοβιολογικές αντιδράσεις του δέρματος και συζητά τις πιθανές προεκτάσεις στη βελτίωση της φωτοπροστασίας.

### 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Πλήθος επιδημιολογικών και πειραματικών ενδείξεων συνηγορούν υπέρ της καρκινογενετικής επίδρασης της υπεριώδους ακτινοβολίας στο ανθρώπινο δέρμα.<sup>1,2</sup> Η επίδραση αυτή εξασκείται μέσω πολλών και σύνθετων κυτταρικών μηχανισμών, που αφορούν στη διαταραχή της μεταβίβασης σήματος από την κυτταρική μεμβράνη στον πυρήνα, το σχηματισμό ελευθέρων ριζών οξυγόνου με κυτταροτοξική δράση και, κυρίως, την άμεση βλαπτική δράση των υπεριώδων ακτίνων στο κυτταρικό DNA (εικ. 1).<sup>3</sup> Η απορρόφηση της UV-ακτινοβολίας από το μόριο του DNA προκαλεί συγκεκριμένες αλ-

λλαγές στη δομή του και οδηγεί στο σχηματισμό σύμπλοκων χημικών ενώσεων σε θέσεις διπυριμιδινών, που ονομάζονται φωτοπροϊόντα.<sup>4</sup> Η αδυναμία επιδιόρθωσης των φωτοπροϊόντων σε γενετικά νοσήματα με αυξημένη καρκινογενετική προδιάθεση, όπως η μελαγχρωματική ξηροδερμία, και η ελλιπής ικανότητα αποκατάστασής τους σε ασθενείς με βασικοκυτταρικά καρκινώματα σε σύγκριση με φυσιολογικούς μάρτυρες, φανερώνει την ισχυρή αιτιολογική συσχέτιση μεταξύ των φωτοχημικών βλαβών του DNA και της εκδήλωσης καρκίνου του δέρματος από το υπεριώδες φως.<sup>5,6</sup> Αντίστροφα, η βελτίωση της επιδιορθωτικής ικανότητας του DNA με την εξωγενή χρήση ειδικών ενζύμων που απο-

A.I. Στρατηγός,  
Χ. Αντωνίου

Τμήμα Φωτοβιολογίας,  
Κλινική Δερματικών  
και Αφροδισίων Νόσων,  
Πανεπιστήμιο Αθηνών,  
Νοσοκομείο «Ανδρέας Συγγρός», Αθήνα

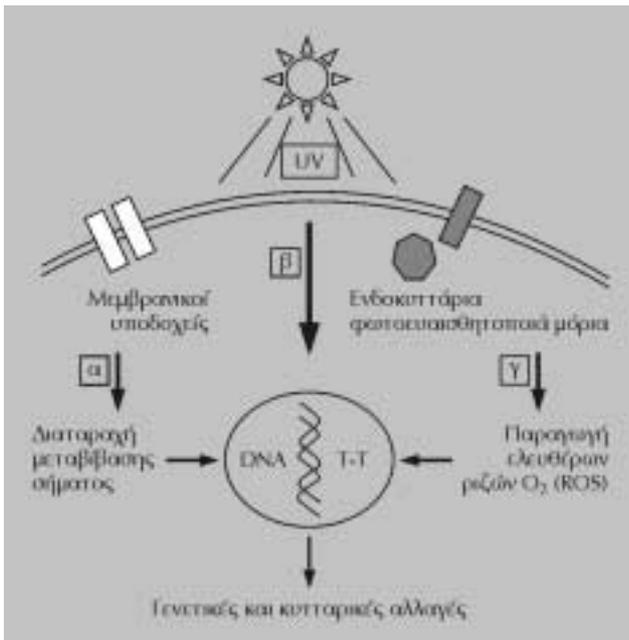
The photochemical damage of DNA  
and its role in the biological effects  
of ultraviolet radiation on the skin

*Abstract at the end of the article*

### Λέξεις ευρετηρίου

Ανοσοκαταστολή  
Αντιπληκτικά  
Διμερή κυκλοβουτανίου  
DNA  
Ερύθημα  
Καρκίνος του δέρματος  
Μελάγχρωση  
Φωτοκαρκινογένεση  
Φωτοπροϊόντα  
6-4 ενώσεις πυριμιδίνης-πυριμιδόνης

Υποβλήθηκε 18.6.2001  
Εγκρίθηκε 26.11.2001



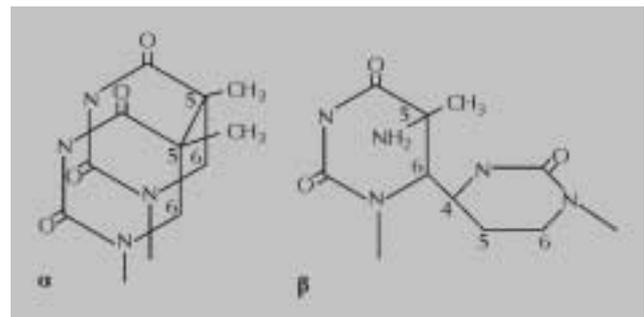
**Εικόνα 1.** Οι κυριότεροι μηχανισμοί της καρκινογενετικής δράσης της υπεριώδους ακτινοβολίας στα κύτταρα του δέρματος. (α) Διαταραχές στη μεταβίβαση σήματος από την κυτταρική μεμβράνη στον πυρήνα και μεταβολές στην έκφραση γονιδίων. (β) Άμεση μεταλλαξιογόνος επίδραση στο DNA των κυττάρων με το σχηματισμό φωτοπροϊόντων. (γ) Παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου με κυτταροτοξική δράση.

μακρύνουν τα σχηματιζόμενα φωτοπροϊόντα μειώνει την καρκινογενετική ικανότητα της υπεριώδους ακτινοβολίας σε πειραματόζωα και ελαττώνει τη συχνότητα εμφάνισης δερματικών όγκων μετά από επανειλημμένες ακτινοβολήσεις. Υπάρχουν επιπρόσθετες ενδείξεις ότι οι φωτοχημικές βλάβες του DNA πιθανώς να ενεργοποιούν ανοσοκατασταλτικούς μηχανισμούς, ελαττώνοντας την ανοσιακή επαγρύπνηση του δέρματος απέναντι σε νεοπλασματικά κύτταρα που προκαλούνται από την UV-ακτινοβολία.<sup>8</sup> Εκτός από τις μακροχρόνιες συνέπειές τους, τα φωτοπροϊόντα συμμετέχουν και στην παθογένεια των πιο άμεσων επιδράσεων της υπεριώδους ακτινοβολίας στο δέρμα, όπως είναι η εμφάνιση του ηλιακού ερυθρήματος και η πρόκληση μελάγχρωσης.<sup>9</sup> Επομένως, ο σχηματισμός φωτοπροϊόντων και γενικότερα οι φωτο-προκαλούμενες βλάβες στο μόριο του DNA των επιδερμικών κυττάρων φαίνεται ότι κατέχουν κεντρικό ρόλο στις φωτοβιολογικές αντιδράσεις του δέρματος, είτε αυτές είναι οξείες είτε χρόνιες.

## 2. ΤΙ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΦΩΤΟΠΡΟΪΟΝΤΑ;

Η αφητηρία των φωτοβιολογικών μεταβολών του δέρματος μετά από την έκθεση στην υπεριώδη ακτινοβολία σημειώνεται πιθανότατα στον πυρήνα των κυττάρων, με

την άμεση απορρόφηση της UV-ακτινοβολίας από το μοριακό DNA των κυττάρων. Η ενέργεια των φωτονίων της UV απορροφάται από τα μόρια των νουκλεοτιδίων, τα οποία μεταπίπτουν σε μια ενεργοποιημένη κατάσταση (excited state), με αλλαγές στη θέση των ηλεκτρονίων, αναδιάταξη των χημικών δεσμών και δημιουργία νέων χημικών ενώσεων μεταξύ των νουκλεϊκών οξέων, που ονομάζονται φωτοπροϊόντα (εικ. 2). Τα φωτοπροϊόντα (photoproducts) σχηματίζονται σε συγκεκριμένες «ευάλωτες» θέσεις του γονιδιώματος, που συνήθως περιέχουν διαδοχικές βάσεις πυριμιδινών (κυτοσίνης ή θυμίνης) πάνω στην ίδια αλυσίδα του DNA.<sup>10</sup> Τα διμερή κυκλοβουτανίου (διμερή θυμίνης ή κυτοσίνης) είναι τα συχνότερα φωτοπροϊόντα (85%) και οφείλονται στη διάνοιξη του διπλού δεσμού στις θέσεις C5 και C6 δύο γειτονικών βάσεων κυτοσίνης ή θυμίνης και στον επακόλουθο σχηματισμό ενός τετραμελούς δακτυλίου κυκλοβουτανίου μεταξύ τους. Αντίθετα, η αντίδραση του διπλού δεσμού της θέσης C5 μιας βάσης πυριμιδίνης (5' πυριμιδίνης) με την εξωκυκλική ομάδα της γειτονικής πυριμιδίνης (3' πυριμιδίνης) και η επακόλουθη ένωσή τους στις θέσεις C6 και C4 δημιουργεί το φωτοπροϊόν 6-4 ή φωτοπροϊόν πυριμιδίνης-πυριμιδίνης (10–30% των φωτοπροϊόντων).<sup>11</sup> Οι τελευταίες αυτές ενώσεις μπορούν να φωτοϊσομεριστούν στα φωτοπροϊόντα του Dewar υπό την επίδραση της UVA-ακτινοβολίας και ειδικότερα σε μήκη κύματος γύρω από τα 320 nm. Άλλα φωτοπροϊόντα περιλαμβάνουν τα υδρογονωμένα φωτοπροϊόντα κυτοσίνης, τα φωτοπροϊόντα πουρινών, καθώς και εκείνα που δημιουργούνται έμμεσα από την οξειδωτική επίδραση δραστικών μορφών οξυγόνου (reactive oxygen species) στο μόριο του DNA, π.χ. η 8-υδροξυ-2'-δεοξυγουανοσίνη.<sup>12</sup> Θραύσεις μονόκλωνου ή δίκλωνου DNA (single or double strand DNA) και διασταυρούμενες ενώσεις (DNA crosslinks) μπορούν επίσης να σχηματιστούν, αλλά η παρουσία τους είναι γενικώς ασύμβατη με την επιβίωση των κυττάρων.



**Εικόνα 2.** Τα κυριότερα φωτοπροϊόντα που σχηματίζονται υπό την επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας. (α) Διμερή κυκλοβουτανίου. (β) Ενώσεις 6-4 πυριμιδίνης-πυριμιδίνης.

Τα φωτοπροϊόντα μεταβάλλουν τη στερεοτακτική δομή του μορίου του DNA και προδιαθέτουν στο σχηματισμό μεταλλάξεων, προκαλώντας δυσκολίες στην αναγνώριση των βάσεων κατά τη διαδικασία διπλασιασμού του DNA (φάση S του κυτταρικού κύκλου) από το ένζυμο της DNA-πολυμεράσης. Καθώς το ένζυμο αυτό «διαβάζει» τα νουκλεοτίδια της μητρικής αλυσίδας, αδυνατεί να αποκωδικοποιήσει τις τροποποιημένες βάσεις και τοποθετεί λανθασμένες βάσεις στη νέα θυγατρική αλυσίδα του DNA, προκαλώντας το σχηματισμό σημειακών κυρίως μεταλλάξεων. Οι συχνότερες τέτοιες μεταλλάξεις από την UV-ακτινοβολία χαρακτηρίζονται από την αντικατάσταση των βάσεων κυτοσίνης από νουκλεοτίδια θυμίνης και μπορεί να είναι μονές (C→T) ή διπλές αντικαταστάσεις (CC→TT), όταν αφορούν γειτονικές βάσεις κυτοσίνης. Ο σχηματισμός διπλών μεταλλάξεων CC→TT αποτελεί ιδιαίτερο χαρακτηριστικό της υπεριώδους ακτινοβολίας και ειδικά της UVB (290–320 nm), λόγω της σχετικά επιλεκτικής εντόπισης των UV-φωτοπροϊόντων στις διπυριμιδικές θέσεις. Ελάχιστα άλλα καρκινογόνα στη φύση, με την εξαίρεση ίσως του O<sub>2</sub> και της αφλατοξίνης B1, μπορούν να προκαλέσουν τέτοιες μεταλλάξεις CC→TT, γεγονός που τις καθιστά σχεδόν αποκλειστικούς «δείκτες» επίδρασης ή «μοριακά αποτυπώματα» (molecular fingerprints) της UVB-ακτινοβολίας.<sup>13</sup>

Θα πρέπει επίσης να επισημανθεί ότι το είδος των φωτοπροϊόντων που σχηματίζονται στο δέρμα διαφέρει ανάλογα με το επιμέρους φάσμα της υπεριώδους ακτινοβολίας. Η UVA-ακτινοβολία (320–400 nm) είναι 10.000 φορές λιγότερο μεταλλαξιογόνος από την UVB και τα φωτοπροϊόντα που παράγονται στις αλυσίδες του DNA υπό την επίδρασή της φαίνεται ότι διαφέρουν από αυτά της UVB-ακτινοβολίας, χωρίς ωστόσο να έχουν προσδιοριστεί με σαφήνεια. Διμερή θυμίνης έχουν ανιχνευθεί σε κύτταρα ακτινοβολημένα με UVA, αλλά σε χαμηλά επίπεδα.<sup>14</sup> Αντίθετα, η αντικατάσταση νουκλεοτιδίων θυμίνης από γουανοσίνη (T→G) σε UVA-ακτινοβολημένο DNA πιθανώς να υποδηλώνει την ύπαρξη ενός διαφορετικού φωτοπροϊόντος, που επάγει τη συγκεκριμένη μετάλλαξη. Οι μεταλλάξεις αυτές (T→G, TT→GG) έχουν ενοχοποιηθεί ως πιθανά μοριακά αποτυπώματα της UVA πάνω στο γενετικό υλικό, αντίστοιχα, των μεταλλάξεων CC→TT για την UVB-ακτινοβολία.<sup>14</sup>

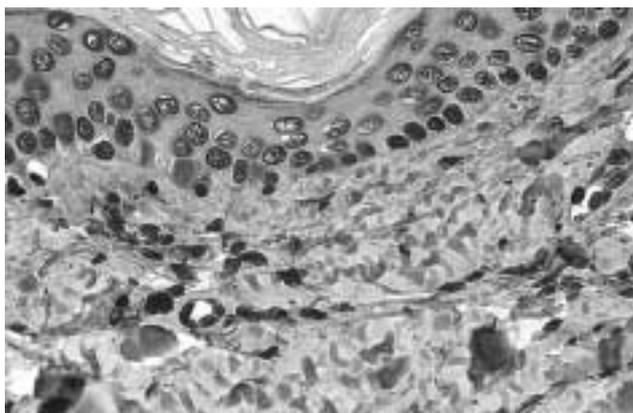
### 3. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗΣ ΤΩΝ ΒΛΑΒΩΝ ΤΟΥ DNA

Η παρουσία των φωτοπροϊόντων του DNA κατά τη φάση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού μπορεί να προ-

καλέσει μεταλλάξεις σε κρίσιμα για την κυτταρική λειτουργία γονίδια και να οδηγήσει το κύτταρο σε μια σταδιακή εξαλλαγή της βιολογικής του συμπεριφοράς. Η μεταλλαξιογόνος αυτή δράση, ωστόσο, προλαβαίνεται με τη λειτουργία ορισμένων εξειδικευμένων ενζυμικών μηχανισμών, οι οποίοι αναγνωρίζουν και εξουδετερώνουν τα φωτοπροϊόντα του DNA, όπου αυτά σχηματίζονται. Ο κυριότερος μηχανισμός επιδιόρθωσης του κυτταρικού DNA είναι το σύστημα εκτομής-επιδιόρθωσης νουκλεοτιδίων (nucleotide excision repair system), το οποίο αποτελείται από πολλαπλά ένζυμα.<sup>15</sup> Μετά την έκθεση κυτάρων σε UV-ακτινοβολία παρατηρείται μια παροδική αναστολή του πολλαπλασιασμού του DNA και της κυτταρικής διαίρεσης, η οποία επιτρέπει στο σύστημα των επιδιορθωτικών ενζύμων να αναγνωρίσει και να εξαιρέσει τα βεβλαμμένα τμήματα του DNA, αποκαθιστώντας τη σωστή αλληλουχία των νουκλεοτιδίων.<sup>16</sup> Οι ενώσεις 6-4 πυριμιδίνης-πυριμιδόνης επιδιορθώνονται πολύ πιο γρήγορα από τα διμερή κυκλοβουτανίου, πιθανότατα λόγω της ισχυρότερης μεταλλαξιογόνου δράσης τους.<sup>17</sup> Ακόμα και αν ορισμένα φωτοπροϊόντα διαφύγουν της επιδιορθωτικής δράσης των ενζύμων αυτών και το κύτταρο τελικώς εισέλθει στη φάση της κυτταρικής διαίρεσης, οι σχηματιζόμενες μεταλλάξεις αποκαθίστανται αργότερα με ένα σύστημα ομόλογου ανασυνδυασμού, που μεταφέρει αλληλουχίες νουκλεοτιδίων από τη συμπληρωματική «ακέραια» αλυσίδα του DNA. Υπάρχει επίσης το ενζυμικό σύστημα της φωτολυάσης (photolyase), το οποίο, ενεργοποιούμενο από το ορατό φως, αποκαθιστά ορισμένες από τις φωτοχημικές γενετικές βλάβες.

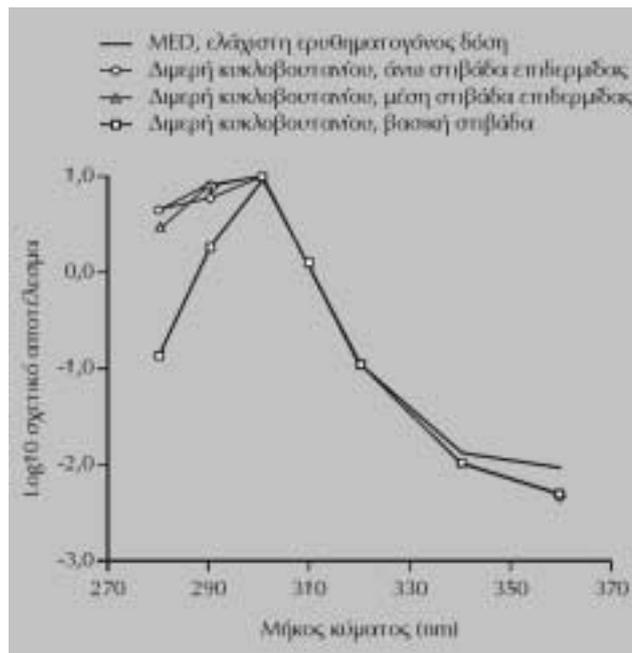
### 4. ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΦΩΤΟΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

Την τελευταία δεκαετία, διάφορες μελέτες έχουν τεκμηριώσει τη δημιουργία φωτοπροϊόντων στα επιδερμικά κύτταρα μετά από έκθεση σε υπεριώδη ακτινοβολία. Σε αντίθεση με παλαιότερες μεθόδους, που χρησιμοποιούσαν ενδονουκλεάσες για την αναγνώριση των φωτοπροϊόντων και απαιτούσαν αποδόμηση της επιδερμίδας, οι νεότερες τεχνικές με μονοκλωνικά αντισώματα επέτρεψαν την οπτική ανίχνευση των ενώσεων αυτών σε ακέραια επιδερμίδα και χόριο (*in situ*), διευκολύνοντας έτσι τη μελέτη του ρόλου τους στα διάφορα φωτοβιολογικά φαινόμενα.<sup>19</sup> Με τις ίδιες μεθόδους μπορούμε να εντοπίσουμε τις φωτοχημικές βλάβες του DNA στην επιδερμίδα και το χόριο μετά από υπεριώδη έκθεση και να προσδιορίσουμε την κινητική επιδιόρθωσή τους σε συγκεκριμένους κυτταρικούς πληθυσμούς, όπως τα κερατινοκύτταρα, τα μελανοκύτταρα και τα κύτταρα Langerhans (εικ. 3).



**Εικόνα 3.** Ανοσοϊστοχημική χρώση του δέρματος με μονοκλωνικό αντίσωμα για διμερή θυμίνης (καφεοειδής χρώση πυρήνων) μετά από ακτινοβολία με ερυθματογόνο δόση UVB-ακτινοβολίας. Παρατηρείται θετική χρώση σε ενδοθηλιακά κύτταρα και τριχικούς θύλακες στο χόριο (με τη συμβολή του Ν. Καπράνου, Τμήμα Μοριακής Παθολογοανατομίας, Νοσοκομείο «Α. Φλέμιγκ»).

Οι Young et al εξέτασαν την κατανομή των διμερών κυκλοβουτανίου (διμερών θυμίνης) στην επιδερμίδα μετά από ακτινοβολία με διαφορετικά μήκη κύματος μονοχρωματικής υπεριώδους ακτινοβολίας<sup>20</sup> και διαπίστωσαν ότι μήκη κύματος 280 και 290 nm, που περιλαμβάνονται στην UVC-ακτινοβολία (200–290 nm), προκαλούν βλάβη κυρίως στις υπερβασικές στιβάδες της επιδερμίδας (κοκκιώδη, ακανθωτή). Λόγω του σχετικά μικρού μήκους κύματος και της περιορισμένης διεισδυτικότητάς της, η UVC απορροφάται κυρίως από χρωμοφόρα της κερατίνης στιβάδας, χωρίς να επηρεάζει ιδιαίτερα τα κύτταρα της βασικής στιβάδας. Αντίθετα, υπεριώδη μήκη κύματος από 300 έως 360 nm (UVB και UVA-ακτίνες) προκαλούν το σχηματισμό φωτοπροϊόντων σε όλα ανεξαιρέτως τα επιδερμικά κύτταρα και σε ορισμένα κύτταρα του χορίου. Το ενδιαφέρον εύρημα ήταν η απουσία μιας διαδερμιακής διαβάθμισης ως προς τη βλάβη του DNA (damage gradient), όπως θα αναμενόταν λόγω της σταδιακά μεγαλύτερης διεισδυτικότητας από την UVB προς την UVA. Η μεγαλύτερη ποσότητα των παραγομένων φωτοπροϊόντων, αντίστοιχη με το μέγεθος της βλάβης του DNA, παρατηρείται σε μήκη κύματος της UVB-ακτινοβολίας (295–300 nm), δηλαδή στα ίδια μήκη κύματος που είναι τα κυρίως υπεύθυνα για την εμφάνιση του ηλιακού ερυθθήματος (εικ. 4). Η διαπίστωση αυτή ισχύει για όλο σχεδόν το φάσμα της υπεριώδους ακτινοβολίας, καθώς στα υπόλοιπα μήκη κύματος που εξετάστηκαν, από τα 280 έως τα 360 nm, η καμπύλη σχηματισμού των διμερών θυμίνης ταυτίζεται με την καμπύλη εμφάνισης του ερυθθήματος, εκτός από μια μικρή απόκλιση στο απώτερο άκρο του φάσματος



**Εικόνα 4.** Δραστικό φάσμα σχηματισμού των διμερών θυμίνης σε επιδερμικά κύτταρα μετά από έκθεση σε υπεριώδη ακτινοβολία. Τα μήκη κύματος γύρω από τα 300 nm (UVB-ακτινοβολία) εμφανίζουν ισχυρότερη επαγωγική δράση. Παρατηρείται σχετική σύμπτωση με το δραστικό φάσμα του ερυθθήματος. (Ανατύπωση από άρθρο των Young et al. *J Invest Dermatol* 1998, 111:982–988).<sup>20</sup>

της UVA (340–360 nm). Παρόμοια διαπίστωση ισχύει και για άλλα φωτοπροϊόντα. Το δραστικό φάσμα για το σχηματισμό των ενώσεων 6-4 πυριμιδίνης-πυριμιδόνης, για παράδειγμα, είναι το ίδιο με αυτό των διμερών κυκλοβουτανίου, εμφανίζοντας ισχυρότερη επαγωγική δράση στα μήκη κύματος της υπεριώδους ακτινοβολίας Β (μήκη κύματος περί τα 300 nm).<sup>21</sup> Αυτή η ταύτιση του δραστικού φάσματος μιας βιοχημικής αντίδρασης (σχηματισμός διμερών θυμίνης ή 6-4 φωτοπροϊόντων) και ενός κλινικού αποτελέσματος (ηλιακό ερυθθήμα) παρέχει άμεση ένδειξη ότι το DNA πιθανώς είναι το χρωμοφόρο μόριο του δέρματος για το ηλιακό ερυθθήμα. Αν και δεν αποκλείεται η ύπαρξη άλλων χρωμοφώρων στην επιδερμίδα, υποστηρίζεται ότι, τουλάχιστον για την UVC και την UVB, ο σχηματισμός των διμερών θυμίνης και των λοιπών φωτοπροϊόντων στο DNA των κερατινοκυττάρων αποτελεί το πρωταρχικό γεγονός, που μέσω μιας αλυσιδωτής έκλυσης διαφόρων φλεγμονωδών μεταβαστών πυροδοτεί την κλινική εμφάνιση του ερυθθήματος. Είναι επίσης πιθανό ότι ένα βαθύτερο ερυθθήμα, που παρατηρείται στα ίδια μήκη κύματος με υψηλότερες δόσεις ακτινοβολίας, οφείλεται σε βλάβες του DNA που βρίσκονται σε μεγαλύτερο ιστικό βάθος, π.χ. στα ενδοθηλιακά κύτταρα του χορίου. Η απόκλιση του δραστικού φάσματος των φωτοπροϊόντων από εκείνο του η-

λιακού ερυθρήματος σε μήκη κύματος 340 και 360 nm υποδηλώνει την ύπαρξη ενός επιπρόσθετου «ερυθηματογόνου» χρωμοφόρου μορίου, εκτός του DNA, για το φάσμα της UVA<sub>1</sub> (340–400 nm). Το χρωμοφόρο αυτό μόριο παραμένει μέχρι σήμερα άγνωστο.

## 5. ΚΙΝΗΤΙΚΗ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗΣ ΤΩΝ ΦΩΤΟΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

Η κινητική επιδιόρθωσης των δύο βασικών ειδών φωτοπροϊόντων μετά από υπεριώδη έκθεση του δέρματος ακολουθεί διαφορετικούς ρυθμούς. Σε εθελοντές με ανοικτό φωτότυπο δέρματος (τύποι I και II), που εκτέθηκαν σε δόση 2 MED (ελάχιστη ερυθματογόνος δόση) υπεριώδους φωτός από ηλιακό προσομοιωτή (solar simulator), τα διμερή κυκλοβουτανίου είχαν σχετικά αργή απομάκρυνση, με χρόνο ημίσειας ζωής  $33,3 \pm 2,4$  ώρες και με συνεχιζόμενη ανίχνευση ακόμα και 7 μέρες μετά από την ακτινοβολία.<sup>17</sup> Αντίθετα, τα 6-4 φωτοπροϊόντα επιδιορθώνονται ταχύτερα και έχουν χρόνο ημίσειας ζωής 15 φορές μικρότερο από εκείνον των διμερών κυκλοβουτανίου ( $t_{1/2} = 2,3 \pm 0,5$  ώρες), γεγονός που πιθανώς υποδηλώνει τον ιδιαίτερα βλαπτικό ή μεταλλαξιογόνο ρόλο τους. Άλλες μελέτες, που χρησιμοποίησαν χρωματογραφικές μεθόδους, αναφέρουν ταχύτερη απομάκρυνση των διμερών κυκλοβουτανίου (>50% μέσα σε λιγότερο από 24 ώρες), αλλά οι διαφορές αυτές πιθανώς να σχετίζονται με παραλλαγές στις μεθόδους ακτινοβολίας, με την επιλογή των ασθενών ως προς το φωτότυπό τους και με τη χρησιμοποιούμενη τεχνική ανίχνευσης των φωτοπροϊόντων.<sup>22,23</sup> Το πιθανότερο είναι ότι υπάρχει μια αρχική φάση ταχείας επιδιόρθωσης των διμερών κυκλοβουτανίου (>50% μέσα σε λιγότερο από 24 ώρες), ακολουθούμενη από μια πιο αργή αλλά σταθερή φάση απομάκρυνσής τους, στην οποία συμμετέχουν και άλλοι φυσικοί μηχανισμοί του δέρματος, όπως η επιδερμική υπερπλασία που παρατηρείται μετά από UV-ακτινοβολία και η επιτάχυνση της φυσιολογικής απόπτωσης των κερατινοκυττάρων. Οι διαφορετικές αυτές φάσεις προφανώς αντανακλούν διαφορετικούς ρυθμούς επιδιόρθωσης ανάμεσα σε διαφορετικά τμήματα του γονιδιώματος των κυττάρων. Η επιδιόρθωση των φωτοπροϊόντων, δηλαδή, ακολουθεί μια αντιγραφικώς συζευγμένη (transcription-coupled) διαδικασία, με ταχύτερη απομάκρυνση των φωτοπροϊόντων σε τμήματα του γονιδιώματος που βρίσκονται σε ενεργό φάση αντιγραφής, σε αντίθεση με αντιγραφικώς απενεργοποιημένα ή «σιωπηλά» τμήματα. Σε δέρμα επιμύων, για παράδειγμα, το 80% των φωτοπροϊόντων που σχηματίζονται σε αντιγραφικά τμήματα του γονιδίου *p53* εξουδετερώνονται μέσα στις πρώτες 24 ώρες, σε αντίθεση με τα μη-αντιγραφικά μέρη, όπου η επιδιόρθωση του DNA είναι πολύ αργή ή σχεδόν ανύπαρκτη.<sup>24</sup> Επιπλέον,

η νουκλεοτιδική σειρά των φωτοπροϊόντων παίζει καθοριστικό ρόλο για τη σειρά επιδιόρθωσης. Τόσο τα διμερή κυκλοβουτανίου όσο και τα 6-4 φωτοπροϊόντα επιδιορθώνονται ταχύτερα με τη σειρά TT#C σε σχέση με τη σειρά TT#T, πιθανώς λόγω της μεγαλύτερης παραμόρφωσης του μορίου του DNA από τα φωτοπροϊόντα κυτοσίνης-θυμίνης και, κατά συνέπεια, την ευκολότερη αναγνώριση της βλάβης από τους επιδιορθωτικούς μηχανισμούς του DNA.

Διαφορές στους ρυθμούς επιδιόρθωσης των φωτοπροϊόντων εμφανίζονται και ως προς το βαθμό διαφοροποίησης των επιδερμικών κυττάρων. Έτσι, η αποκατάστασή τους συμβαίνει ταχύτερα σε συγκεκριμένα και «ευαίσθητα» επιδερμικά κύτταρα, όπως τα αναγεννητικά κύτταρα της βασικής στιβάδας, ενώ ακολουθεί βραδύτερους ρυθμούς στα πιο διαφοροποιημένα και «ανθεκτικότερα» κύτταρα της ακανθωτής στιβάδας. Γεγονός, πάντως, είναι ότι, ακόμα και σε άτομα με τον ίδιο φωτότυπο, υπάρχει σημαντική διακύμανση, όχι μόνο ως προς το χρόνο επιδιόρθωσης των φωτοπροϊόντων, αλλά και ως προς την αρχική έκταση της βλάβης του DNA από την UV-ακτινοβολία, όπως αυτή εκφράζεται από τον αριθμό ή το «φορτίο» των φωτοπροϊόντων. Έτσι, σε εθελοντές με τον ίδιο τύπο δέρματος (φωτότυπο II), παρατηρήθηκε εξαπλάσια διακύμανση στην ποσότητα των φωτοπροϊόντων που ανιχνεύονται άμεσα μετά από ακτινοβολία από ηλιακό προσομοιωτή και 20πλάσια διακύμανση στο χρόνο επιδιόρθωσής τους.<sup>25</sup> Δεν είναι ακόμη γνωστό αν υπάρχει κάποια διαφοροποίηση στο ρυθμό επιδιόρθωσης των φωτοπροϊόντων ανάμεσα σε διαφορετικούς φωτότυπους δέρματος (ανοικτόχρωμων έναντι μελαχρινότερων), αν και ορισμένες αναφορές στη βιβλιογραφία υποστηρίζουν ότι δεν υφίστανται σημαντικές διαφορές μεταξύ τους.<sup>9</sup>

## 6. ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΦΩΤΟΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΣΕ ΕΠΙΜΕΡΟΥΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥΣ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥΣ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ

Εκτός από τα κερατινοκύτταρα, που αποτελούν το μεγαλύτερο κυτταρικό πληθυσμό της επιδερμίδας, διμερή θυμίνης σχηματίζονται και σε άλλα κύτταρα του δέρματος, όπως τα μελανοκύτταρα, τους ινοβλάστες του χορίου, τα κύτταρα του τριχικού θυλάκου και τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Οι βιολογικές τους επιδράσεις στα κύτταρα αυτά δεν έχουν διελευκανθεί. Φωτοπροϊόντα σχηματίζονται επίσης και στα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα του Langerhans σε πειραματικά μοντέλα επιμύων.<sup>26</sup> Δενδριτικά αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα που περιέχουν διμερή κυκλοβουτανίου έχουν απομονωθεί από επιχώριους λεμφαδένες τουλάχιστον 4 ημέρες μετά από

ακτινοβόληση δέρματος επιμύων, καταδεικνύοντας τη μεταφορά της επιδερμικής βλάβης του DNA μέσω των μεταναστευτικών αυτών κυττάρων σε άλλα σημεία του σώματος. Τα μελανοκύτταρα, από την άλλη μεριά, εμφανίζουν και αυτά διμερή θυμίνης στους πυρήνες τους μετά από έκθεση σε υπεριώδη ακτινοβολία, όπως δείχνουν *in situ* μελέτες ανθρώπινου δέρματος που χρησιμοποιούν ταυτόχρονες διπλές ανοσοϊστοχημικές χρώσεις για φωτοπροϊόντα και ειδικά μελανοκυτταρικά αντιγόνα. Έτσι, η έκθεση φωτοκαλυμμένου δέρματος εθελοντών με φωτότυπο I και II σε μήκη κύματος UVB (300 nm) και UVA (320, 340, 360 nm) επάγει τη δημιουργία διμερών κυκλοβουτανίου σε μελανοκύτταρα και μάλιστα σε επίπεδα συγκρίσιμα με εκείνα των γειτονικών κερατινοκυττάρων.<sup>27</sup> Η παρατήρηση αυτή αποκτά ιδιαίτερη σημασία, καθώς αφενός μεν αναγνωρίζεται ο ρόλος της «υποτιμημένης» UVA στην πρόκληση βλάβης του DNA και αφετέρου καταδεικνύεται η ευαισθησία των μελανοκυττάρων στη μορφή αυτή ακτινοβολίας, που σήμερα συσχετίζεται ισχυρά με την παθογένεια του κακοήθους μελανώματος του δέρματος.<sup>28</sup> Το ερώτημα, επομένως, που τίθεται είναι αν τα μελανοκύτταρα είναι πιο ευάλωτα στη δράση της UVA ή της UVB από τα κερατινοκύτταρα σε ό,τι αφορά την ικανότητά τους να αποκαθιστούν τις φωτοχημικές βλάβες του γενετικού τους υλικού. Η απάντηση δεν είναι ακόμα γνωστή, αλλά οι νεότερες ανοσοϊστοχημικές τεχνικές αποτελούν ένα χρήσιμο εργαλείο για τη μελέτη των ρυθμών επιδιόρθωσης των φωτοπροϊόντων στα κύτταρα αυτά και ειδικότερα για τις πιθανές διαφορές τους ανάμεσα σε μελανοκύτταρα φωτοεκτεθειμένου και φωτοκαλυμμένου δέρματος.

## 7. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΦΩΤΟΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΚΑΙ ΗΛΙΑΚΟΥ ΕΡΥΘΗΜΑΤΟΣ

Το ερύθημα από την υπεριώδη ακτινοβολία αποτελεί το τελικό κλινικό και διαγνωστικό σημείο για τις περισσότερες φωτοβιολογικές αντιδράσεις, ενώ είναι το καθοριστικό μέτρο για τον προσδιορισμό του προστατευτικού δείκτη (SPF, sun protection factor) των αντιηλιακών σκευασμάτων. Επιπρόσθετα, επιδημιολογικές έρευνες έχουν συσχετίσει το κακόηθες μελάνωμα και το βασικοκυτταρικό καρκίνωμα με επανειλημμένα επεισόδια ηλιακού εγκαύματος, ιδιαίτερα κατά την παιδική ηλικία.<sup>29</sup> Το χρωμοφόρο μόριο του UV-ερυθήματος δεν έχει αδιάσειστα τεκμηριωθεί, παρά την ύπαρξη ισχυρών ενδείξεων ότι τα φωτοπροϊόντα και ειδικά τα διμερή κυκλοβουτανίου πυροδοτούν τη φλεγμονώδη αντίδραση. Η ταύτιση του δραστικού φάσματος των διμερών θυμίνης *in vivo* με εκείνη του ερυθήματος στους ίδιους εθελοντές, όπως προαναφέρθηκε, υπογραμμίζει το ρόλο

της βλάβης του DNA από την υπεριώδη έκθεση στην επαγωγή του ερυθήματος.<sup>20</sup> Η ενεργοποίηση του ενζύμου της φωτολύασης στο μαρσιποφόρο *Monodelphis domestica* καταλύει το σχηματισμό των διμερών κυκλοβουτανίου, αναστέλλοντας την εκδήλωση ερυθήματος, ενώ η τοπική χρήση λιποσωμικής ενδονουκλεάσης, που επιδιορθώνει τις βλάβες του DNA, αυξάνει την ελάχιστη ερυθματογόνο δόση (MED) των 48 ωρών σε ασθενείς με μελαγχρωματική ξηροδερμία.<sup>30</sup> Ο ρόλος των 6-4 φωτοπροϊόντων στο ερύθημα της υπεριώδους ακτινοβολίας δεν έχει αποσαφηνιστεί πλήρως, αλλά έχει παρατηρηθεί ότι η απομάκρυνσή τους συμπίπτει χρονικά με την εμφάνιση ερυθήματος, δημιουργώντας έτσι την εύλογη υπόθεση ότι ο μηχανισμός επιδιόρθωσης των φωτοπροϊόντων αυτών συμμετέχει στην ερυθματογόνο αντίδραση του δέρματος. Οι ενδείξεις αυτές αναγίνουν το ερύθημα σε έναν κλινικό δείκτη (clinical surrogate), που εκφράζει τις φωτοπροκαλούμενες βλάβες του DNA και που ενεργοποιείται είτε από τα ίδια τα φωτοπροϊόντα είτε από τη διαδικασία επιδιόρθωσής τους. Θα πρέπει, ωστόσο, να σημειωθεί ότι, τόσο τα διμερή θυμίνης όσο και τα 6-4 φωτοπροϊόντα, εμφανίζονται ακόμα και με υποερυθηματογόνες δόσεις υπεριώδους ακτινοβολίας, αν και σε μικρότερο βαθμό και έκταση.<sup>18</sup> Η απουσία ερυθήματος, δηλαδή, δεν σημαίνει απαραίτητα και απουσία επιδερμικής DNA-βλάβης. Είναι, ωστόσο, αρκετά πιθανό να απαιτείται ένας κρίσιμος «ουδός» ή «φορτίο» φωτοπροϊόντων στο δέρμα για την τελική εκδήλωση του ερυθήματος.

## 8. ΜΕΛΑΝΙΝΟΓΕΝΕΣΗ ΚΑΙ ΦΩΤΟΠΡΟΪΟΝΤΑ

Ως γνωστό, η παραγωγή μελανίνης από τα μελανοκύτταρα αποτελεί το βασικότερο ενδογενή φωτοπροστατευτικό μηχανισμό του δέρματος, σε συνδυασμό με την πάχυνση της κερατίνης στιβάδας και την υπερπλαστική αντίδραση της επιδερμίδας στην υπεριώδη έκθεση. Η ενεργοποίηση της μελανινογένεσης αποτελεί μια σύνθετη διεργασία με σχετικά άγνωστους εκλυτικούς μηχανισμούς. Νεότερες ερευνητικές ενδείξεις υποστηρίζουν το ρόλο των φωτοπροϊόντων ως εκλυτικού φαινομένου της διαδικασίας αυτής. Η προσθήκη μιας επιδιορθωτικής ενδονουκλεάσης του DNA σε κυτταρικές σειρές ανθρώπινων μελανοκυττάρων μετά από έκθεση σε UV-ακτινοβολία προκαλεί αύξηση της ενδοκυτταρικής μελανίνης, υποδηλώνοντας ότι η διαδικασία εκτομής-επιδιόρθωσης των φωτοπροϊόντων διεγείρει τη λειτουργία των μελανοκυττάρων και την παραγωγή μελανίνης.<sup>31</sup> Τα ευρήματα αυτά έχουν περαιτέρω τεκμηριωθεί με την *in vitro* χρήση συνθετικών ολιγονουκλεοτιδίων θυμίνης (pTpT), που προσομοιάζουν με τα φυσικώς προκαλούμενα διμερή θυμίνης. Η προσθήκη αυτών των ολιγο-

νουκλεοτιδίων σε καλλιέργειες ανθρώπινων μελανοκυττάρων χωρίς την προηγούμενη έκθεση σε υπεριώδη ακτινοβολία ενεργοποιεί τους μηχανισμούς της μελανογένεσης και προκαλεί αύξηση της συγκέντρωσης μελανίνης και του mRNA του ενζύμου της τυροσινάσης στα κύτταρα αυτά, ενώ αυξάνει ταυτόχρονα και τους υποδοχείς της α-MSH στα ανωτέρω κύτταρα.<sup>32</sup> Τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώθηκαν και *in vivo*, καθώς η τοπική χρήση των ίδιων ολιγονουκλεοτιδίων σε δέρμα ινδικών χοιριδίων προκάλεσε μελάγχρωση του δέρματος και μάλιστα με την ίδια χρονική σειρά και με παρόμοια ιστολογικά χαρακτηριστικά με εκείνα που παρατηρούνται στη μελάγχρωση από υπεριώδη ακτινοβολία (αυξημένη μελανίνη στη βασική και υπερβασική στιβάδα).<sup>32</sup> Άλλες μελέτες έδειξαν ότι η μελάγχρωση που προκαλείται από τα ολιγονουκλεοτίδια παρέχει συγκρίσιμη φωτοπροστασία με εκείνη της υπεριώδους ακτινοβολίας, παρέχοντας έτσι επιπρόσθετες ενδείξεις ότι τα ολιγονουκλεοτίδια αυτά «μιμούνται» τη δράση της υπεριώδους ακτινοβολίας στο δέρμα.<sup>33</sup> Εκτός από τη μελανογένεση, τα συνθετικά αυτά διμερή διεγείρουν και άλλους φωτοπροστατευτικούς μηχανισμούς του δέρματος, όπως π.χ. τους ενζυμικούς μηχανισμούς επιδιόρθωσης του DNA. Έτσι, η προσθήκη των ολιγονουκλεοτιδίων pTpT, τόσο σε καλλιέργειες ανθρώπινων ινοβλαστών *in vitro* όσο και σε δέρμα ινδικών χοιριδίων *in vivo*, πριν από την υπεριώδη ακτινοβολή τους, προκαλεί ενεργότερη και ταχύτερη απομάκρυνση των σχηματιζόμενων διμερών κυκλοβουτανίου και των 6-4 φωτοπροϊόντων σε σύγκριση με την ομάδα κυττάρων ή δέρματος.<sup>34</sup> Η επίδραση αυτή ασκείται, τουλάχιστον κατά ένα μέρος, μέσω του ογκοκατασταλτικού γονιδίου p53, ενός γονιδίου που έχει κεντρικό ρόλο στην αντίδραση των κυττάρων σε φυσικούς ή χημικούς μεταλλαξιογόνους παράγοντες. Όπως η υπεριώδης ακτινοβολία, έτσι και η κατεργασία κυτταρικών σειρών με τα νουκλεοτίδια pTpT αυξάνει την ενδοκυττάρια έκφραση του γονιδίου αυτού (και την πρωτεΐνη του), με συνέπεια την επιβράδυνση του πολλαπλασιαστικού ρυθμού των κυττάρων για την αποτελεσματικότερη επιδιόρθωση του γενετικού υλικού. Το σύνολο των παρατηρήσεων αυτών υποστηρίζει σαφώς την υπόθεση ότι, είτε τα ίδια τα φωτοπροϊόντα ή οι μηχανισμοί επιδιόρθωσής τους, έχουν άμεση σχέση με την ενεργοποίηση της μελανογένεσης και των άλλων προστατευτικών μηχανισμών του δέρματος έναντι της υπεριώδους ακτινοβολίας. Το φαινόμενο αυτό προσομοιάζει με την αντίδραση SOS, που απαντάται σε βακτήρια και σε κατώτερους οργανισμούς, όπου οι προκαλούμενες βλάβες του DNA από την υπεριώδη ακτινοβολία ενεργοποιούν μια ομάδα 20 περίπου γονιδίων, που έχουν ως στόχο την επιβίωση των μικροοργανισμών αυτών, την αποκατάσταση του γενετι-

κού τους υλικού και την ανάπτυξη ανοχής σε μελλοντικές υπεριώδεις εκθέσεις.<sup>35</sup>

## 9. ΦΩΤΟΠΡΟΪΟΝΤΑ ΚΑΙ ΑΝΟΣΟΚΑΤΑΣΤΟΛΗ

Η έκθεση του δέρματος στην υπεριώδη ακτινοβολία καταστέλλει ορισμένες ανοσιακές λειτουργίες, κυρίως της κυτταρικής ανοσίας, και προκαλεί μια κατάσταση ανοσιακής ανοχής σε διάφορα αντιγονικά ερεθίσματα, συμπεριλαμβανομένων και των νεοπλασματικών αντιγόνων. Πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι η ανοσοκατασταλτική προδιάθεση κάθε ατόμου απέναντι στην υπεριώδη ακτινοβολία εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τον τύπο του δέρματός του. Έτσι, ανοιχτόχρωμα άτομα (τύποι δέρματος I και II) εμφανίζουν 2-3 φορές μεγαλύτερη καταστολή των αντιδράσεων υπερευαισθησίας στο αλλεργιογόνο DNCB μετά από UV-ακτινοβολία με μέτρια ερυθματογόνες δόσεις, σε σχέση με μελαχρινότερα άτομα (τύποι III και IV).<sup>36</sup> Επίσης, η έκλυση *in vivo* ορισμένων κυτταροκινών που σχετίζονται με την καταστολή του ανοσιακού συστήματος από την UV-ακτινοβολία, όπως ο παράγοντας TNF-α και η ιντερλευκίνη-10 (IL-10), είναι σημαντικά μεγαλύτερη στους ανοιχτότερους απ' ό,τι στους μελαχρινότερους φωτότυπους, μετά από έκθεση σε ισοδύναμη υπεριώδη δόση.<sup>37</sup>

Ποιοι είναι οι μηχανισμοί της UV-επαγόμενης ανοσοκαταστολής; Νεότερες έρευνες δείχνουν ότι η UV-ακτινοβολία διαταράσσει την αντιγονοπαρουσιαστική ικανότητα των δερματικών κυττάρων του δέρματος (κύτταρα Langerhans) και προκαλεί μεταβολές στους λεμφοκυτταρικούς πληθυσμούς και τις παραγόμενες κυτταροκίνες, οδηγώντας τελικά σε υπέρσχυση ανοσοκατασταλτικών έναντι ανοσοδιεγερτικών μηχανισμών.<sup>38</sup> Το αρχικό μοριακό γεγονός που οδηγεί στην εμφάνιση της ανοσοκαταστολής από υπεριώδη ακτινοβολία δεν είναι γνωστό, αλλά οι υπάρχουσες πειραματικές ενδείξεις ενοχοποιούν τις φωτοχημικές βλάβες στο μόριο του DNA των κερατινοκυττάρων και των κυττάρων Langerhans.<sup>39</sup> Άλλοι μοριακοί μηχανισμοί, όπως η παραγωγή ελευθέρων ριζών O<sub>2</sub>, καθώς και οι μεταβολές στην ενδοκυττάρια μεταβίβαση σήματος, πιθανώς να συμμετέχουν στην αρχική φάση της UV-ανοσοκαταστολής, αλλά οι ενδείξεις εδώ είναι λιγότερο σαφείς. Ο ρόλος των φωτοπροϊόντων στην πρόκληση της ανοσοκαταστολής από υπεριώδη ακτινοβολία επισημαίνεται από μελέτες σε επίμυες, όπου η εφαρμογή τοπικών ενζύμων/ενδονουκλεασών που καταλύουν το σχηματισμό των φωτοπροϊόντων αναστρέφει την UV-επαγόμενη καταστολή των αντιδράσεων υπερευαισθησίας εξ επαφής ή επιβραδυνόμενου τύπου. Επιπρόσθετα, η τοπική χρήση λιποσωματικής T4 ενδονουκλεάσης σε άτομα με ιστορικό καρκί-

νου του δέρματος, που ακτινοβολήθηκαν προηγουμένως με 2 δόσεις MED υπεριώδους ακτινοβολίας, ανέστειλε πλήρως τη συνήθως παρατηρούμενη έκλυση των ανοσοκατασταλτικών κυτταροκινών TNF- $\alpha$  και IL-10, χωρίς ωστόσο να επηρεάσει την εκδήλωση ερυθρήματος ή μελάγχρωσης.<sup>40</sup> Τα ερευνητικά αυτά αποτελέσματα συνηγορούν υπέρ της προστατευτικής αξίας των επιδιορθωτικών αυτών ενζύμων έναντι της ανοσοκατασταλτικής δράσης της υπεριώδους ακτινοβολίας, ανοίγοντας έτσι νέους δρόμους προσέγγισης στο θέμα της φωτοπροστασίας.

## 10. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΦΩΤΟΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΣΤΗ ΦΩΤΟΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗ

Είναι δύσκολο να συσχετίσει κανείς ένα οξύ ή άμεσο φωτοβιολογικό γεγονός, όπως είναι ο σχηματισμός φωτοπροϊόντων, με ένα χρόνιο συμβάν, όπως την εμφάνιση καρκίνου του δέρματος. Η κατανόηση της γενετικής υπόστασης του καρκίνου και οι νεότερες έρευνες μοριακής ανάλυσης μας επιτρέπουν σήμερα να γνωρίζουμε πολύ περισσότερα για τους μηχανισμούς της καρκινογενετικής δράσης της υπεριώδους ακτινοβολίας. Όπως ισχύει γενικώς για το φαινόμενο του καρκίνου στον άνθρωπο, έτσι και στον καρκίνο του δέρματος, οι μεταλλάξεις που προκαλεί η UV-ακτινοβολία στο γονιδιακό υλικό μπορούν να οδηγήσουν στην εμφάνιση δερματικών όγκων μέσα από σύνθετες και μακροχρόνιες διαδικασίες. Για να συμβεί αυτό, θα πρέπει οι ανωτέρω μεταλλάξεις να επισυμβούν σε ορισμένα ρυθμιστικά γονίδια, όπως είναι τα πρωτο-ογκογονίδια και τα ογκοκατασταλτικά γονίδια.<sup>41</sup> Ογκογονίδια που απορρυθμίζονται στον καρκίνο του δέρματος είναι το *ras* και το *c-fos*, ενώ τα ογκοκατασταλτικά γονίδια *p53* και *p16* αποτελούν και αυτά στόχους μεταλλάξεων της υπεριώδους ακτινοβολίας, συμμετέχοντας έτσι στην καρκινογενετική διαδικασία των μη μελανωματικών όγκων και των μελανωμάτων, αντίστοιχα.

Ειδικά το γονίδιο *p53* αποτελεί ένα σημαντικό ογκοκατασταλτικό μηχανισμό, που συσχετίζεται άμεσα με την αποκατάσταση των βλαβών του DNA και την προστασία των κυτάρων από διάφορες γενοτοξικές βλάβες (π.χ. φωτοπροϊόντα).<sup>43</sup> Η δυσλειτουργία ενός τέτοιου γονιδίου επιτρέπει τη συσσώρευση ογκογόνων μεταλλάξεων, που, σε συνδυασμό με άλλους παράγοντες, μπορεί να οδηγήσει στην κακοήγη εκτροπή των δερματικών κυτάρων. Δεν είναι εξάλλου τυχαίο ότι μεταλλάξεις του *p53* έχουν ανευρεθεί όχι μόνο σε εγκατεστημένους καρκίνους του δέρματος (ακανθοκυτταρικά και βασικοκυτταρικά καρκινώματα), αλλά και σε προκαρκινικές αλλοιώσεις (ακτινικές υπερκερατώσεις).<sup>44,45</sup> Οι συχνότερες με-

ταλλάξεις του γονιδίου *p53* στους όγκους αυτούς συνίστανται σε σημειακές αντικαταστάσεις C→T (70% των περιπτώσεων) ή διπλές αντικαταστάσεις CC→TT (10% των περιπτώσεων), που, όπως προαναφέρθηκε, αποτελούν μοριακά αποτυπώματα της UVB-ακτινοβολίας σε θέσεις σχηματισμού φωτοπροϊόντων. Και στα δύο είδη δερματικών όγκων, οι μεταλλάξεις συσσωρεύονται σε συγκεκριμένα σημεία του DNA (hot spots), τα οποία προφανώς αντιστοιχούν στις ευπρόσβλητες διπυριμιδικές θέσεις, στις οποίες, για ανεξακρίβωτους λόγους, η επιδιόρθωση των UV-φωτοπροϊόντων γίνεται με βραδύτερο ρυθμό σε σχέση με άλλες περιοχές του γονιδίου *p53*.<sup>46</sup> Παρόμοιες μεταλλάξεις του *p53* με τη χαρακτηριστική UV-αποτύπωση βρέθηκαν και σε προκαρκινικά στάδια του ακανθοκυτταρικού καρκινώματος του δέρματος, καθώς επίσης και σε χρόνια φωτοεκτεθειμένο δέρμα.<sup>45,47</sup>

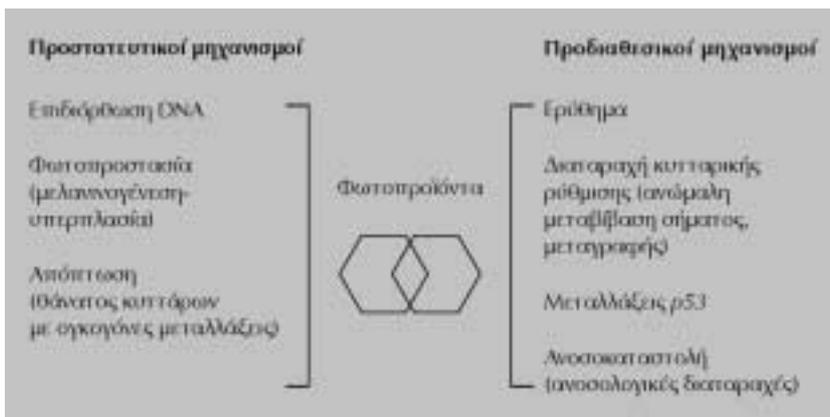
Οι παρατηρήσεις αυτές δείχνουν ότι οι μεταλλάξεις του *p53*, που αποτελούν ένα πρώιμο γεγονός της φωτοκαρκινογένεσης του δέρματος, σχετίζονται έμμεσα με την πρόκληση φωτοχημικών βλαβών στο μόριο του DNA και πιθανώς με μια ανεπάρκεια των μηχανισμών επιδιόρθωσής τους. Παρόμοιες ενδείξεις υπάρχουν και για άλλα γονίδια που εμπλέκονται στον καρκίνο του δέρματος. Το γονίδιο *p16*, για παράδειγμα, το οποίο ευθύνεται για ορισμένες μορφές οικογενούς μελανώματος, εμφανίζει και αυτό μεταλλάξεις και μάλιστα του τύπου C→T ή CC→TT, ενώ το ογκοκατασταλτικό γονίδιο *PTCH*, που ανευρίσκεται μεταλλαγμένο σε περιπτώσεις συνδρόμου βασικοκυτταρικού σπίλου και σποραδικών βασικοκυτταρικών καρκινωμάτων, φέρει και αυτό τις χαρακτηριστικές μεταλλάξεις της UV-ακτινοβολίας.<sup>48,49</sup> Επομένως, μπορεί κανείς να συμπεράνει ότι οι βλάβες του DNA έχουν μια μακροπρόθεσμη δράση, όταν προσβάλλουν συγκεκριμένα ευαίσθητα γονίδια με καθοριστικό ρόλο στον πολλαπλασιασμό και την επιβίωση των κυτάρων. Η δράση αυτή εκδηλώνεται συνήθως με την επανειλημμένη ή χρονία έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία και συνδέεται με ένα ευρύ φάσμα κλινικών και υποκλινικών φαινομένων, από τα οποία άλλα έχουν προδιαθεσικό χαρακτήρα για την εκδήλωση νεοπλασίας, όπως η ανοσοκαταστολή, το ηλιακό ερύθημα και οι διαταραχές στη μεταβίβαση σήματος, ενώ άλλα έχουν προστατευτικό χαρακτήρα, π.χ. η επαρκής επιδιόρθωση των φωτοπροϊόντων, η μελανογένεση, η επιδερμική υπερπλασία και η απόπτωση (εικ. 5). Η τελική εκδήλωση του καρκίνου του δέρματος εξαρτάται εν πολλοίς από το ποια από τα δύο αυτά είδη φαινομένων θα επικρατήσουν.

## 11. ΦΩΤΟΠΡΟΣΤΑΣΙΑ: ΝΕΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Αν και τα αντιηλιακά έχουν κυρίως εφαρμοστεί με στόχο την πρόληψη του ηλιακού ερυθήματος, πειραματικές μελέτες έχουν επισημάνει την προστατευτική τους αξία και στις χρόνιες συνέπειες της UV-ακτινοβολίας, όπως η φωτογήρανση και η καρκινογένεση. Επιδημιολογικές έρευνες στον άνθρωπο έχουν επίσης δείξει μια ισχυρή συσχέτιση μεταξύ της συστηματικής χρήσης αντιηλιακών και της μείωσης των ακτινικών υπερκερατώσεων, που θεωρούνται γενικώς προκαρκινικές βλάβες του δέρματος.<sup>50</sup>

Επειδή η καρκινογένεση αποτελεί μακροχρόνια διεργασία, που δύσκολα μπορεί να μελετηθεί στη βάση μιας προοπτικής επιδημιολογικής έρευνας, η αντιηλιακή προστασία συχνά αξιολογείται με πιο άμεσους ή βραχυπρόθεσμους βιολογικούς δείκτες της καρκινογενετικής διαδικασίας. Τέτοιοι δείκτες είναι (α) ο σχηματισμός φωτοπροϊόντων σε διπυριδιμικές θέσεις του DNA και ειδικά στο γονίδιο *p53*, οι μεταλλάξεις του οποίου ενοχοποιούνται στον καρκίνο του δέρματος, και (β) η ανοσοκατασταλτική δράση της UV-ακτινοβολίας. Μελέτες σε επίμυες έχουν δείξει ότι τα αντιηλιακά προστατεύουν το κυτταρικό DNA και το γονίδιο *p53* από τη μεταλλαξιογόνο επίδραση της UV-ακτινοβολίας, ενώ μπορούν επίσης να διαφυλάξουν το δέρμα από την ανοσοκατασταλτική δράση της, ειδικά όταν περιέχουν στοιχεία με υψηλή UVA-προστασία.<sup>51,52</sup> Ελάχιστα στοιχεία υπάρχουν διαθέσιμα στη βιβλιογραφία σε ό,τι αφορά τους μηχανισμούς φωτοπροστασίας των αντιηλιακών στον άνθρωπο. Σε μια πρόσφατη εργασία χρησιμοποιήθηκαν δύο αντιηλιακά σκευάσματα με κοινό δείκτη προστασίας (SPF 4) αλλά με διαφορετικό φάσμα απορρόφησης και εξετάστηκε η ικανότητά τους να αναστείλουν το σχηματισμό φωτοπροϊόντων στην ανθρώπινη επιδερμίδα μετά

από έκθεση σε υπεριώδες φως.<sup>53</sup> Το ένα αντιηλιακό περιείχε οκτυλ-μεθυλ-σινναμικό οξύ με φάσμα απορρόφησης κυρίως στην UVB-ακτινοβολία, ενώ το δεύτερο περιείχε ένα τερεφθαλιδενικό παράγωγο του σουλφονικού οξέος με ευρύτερο φάσμα προστασίας (UVA και UVB). Έκθεση εθελοντών με φωτότυπο I/II σε 4 MED υπεριώδους ακτινοβολίας προκαλούσε την ίδια συκέντρωση διμερών θυμίνης με την έκθεση σε 1 MED, γεγονός που σημαίνει ότι και τα δύο αντιηλιακά, παρά τις απορροφητικές τους διαφορές, παρείχαν ισοδύναμη προστασία ως προς τη δημιουργία διμερών θυμίνης και την εμφάνιση ερυθήματος. Το αποτέλεσμα αυτό ισχυροποιεί την υπόθεση ότι η βλάβη του DNA και το ερύθημα είναι παράλληλες διεργασίες και ότι ο φωτοπροστατευτικός δείκτης (SPF) μπορεί να θεωρηθεί εφάμιλλος ενός δείκτη DNA-προστασίας, προστατεύοντας όχι μόνο από το ερύθημα αλλά και από τις δυνητικά μεταλλαξιογόνες φωτοχημικές μεταβολές του DNA. Επιπλέον, η χρήση ενός αντιηλιακού ευρέος φάσματος (UVB+UVA) πιθανώς να προσφέρει επιπρόσθετη προστασία από τις οξειδωτικές βλάβες του DNA που προκαλεί η UVA. Με βάση τα δεδομένα αυτά, είναι πολύ πιθανό ότι στο εγγύς μέλλον η φωτοπροστασία θα περιλαμβάνει, εκτός από τα αντιηλιακά, και τη χρήση των ειδικών αυτών επιδιορθωτικών ενζύμων, που θα χρησιμοποιούνται ενδεχομένως πριν ή μετά την έκθεση στον ήλιο και θα συμβάλλουν, μέσω της ταχύτερης απομάκρυνσης των φωτοπροϊόντων, στην πρόληψη των μοριακών φαινομένων που σταδιακά οδηγούν στις χρόνιες βλαπτικές συνέπειες του ήλιου. Σε μια πρόσφατη συγκριτική τυχαίοποιημένη μελέτη σε ασθενείς με μελαγχρωματική ξηροδερμία, η καθημερινή τοπική εφαρμογή ενός λιποσωμιακού επιδιορθωτικού ενζύμου (T4N5) ελάττωσε σημαντικά τη συχνότητα εμφάνισης νέ-



**Εικόνα 5.** Ο ρόλος των φωτοπροϊόντων στην καρκινογενετική επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας στο δέρμα.<sup>9</sup> Οι φωτοχημικές βλάβες του DNA ενεργοποιούν ένα ευρύ φάσμα από βιολογικές αντιδράσεις, μερικές από τις οποίες είναι προστατευτικές και άλλες προδιαθετικές για την ανάπτυξη καρκίνου του δέρματος.

ων ακτινικών υπερκερατώσεων και βασικοκυτταρικών καρκινωμάτων στους εν λόγω ασθενείς.

## 12. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Η ερευνητική εργασία των τελευταίων δεκαετιών έχει υπογραμμίσει τη σημασία του κυτταρικού DNA ως χρωμοφόρου μορίου της υπεριώδους ακτινοβολίας και τη συμμετοχή του σε πολλές βιολογικές αντιδράσεις του δέρματος στην ακτινοβολία αυτή. Ο ρόλος των φωτοπροϊόντων στους μηχανισμούς του ερυθήματος και της επίκτητης μελάγχρωσης του δέρματος είναι πλέον προφανής. Το ερώτημα σχετίζεται άμεσα με το σχηματισμό των ίδιων των φωτοπροϊόντων, σε αντίθεση με τη μελάγχρωση, που συσχετίζεται περισσότερο με τις διαδικασίες επιδιόρθωσης των φωτοπροϊόντων. Ποιοι είναι, ωστόσο, οι παράγοντες, γενετικοί ή μη, που καθορίζουν την εμφάνιση των κλινικών αυτών φαινομένων σε κάθε άτομο; Αν δεχθούμε ότι ο τύπος δέρματος αποτελεί μια λογική απάντηση, τότε είναι πιθανό η παρουσία των φωτοπροϊόντων να κατευθύνει τη βιολογική αντίδραση του δέρματος, προκαλώντας στους μεν ανοιχτόχρωμους φωτοτύπους την εμφάνιση του ερυθήματος, λόγω της ελλιπούς μελαγχρωστικής τους ικανότητας, στους δε με-

λαχρινότερους τύπους την ενεργοποίηση των μηχανισμών της επίκτητης μελάγχρωσης. Κατά προέκταση, μια εγγενής ή επίκτητη αδυναμία αποκατάστασης των φωτοχημικών βλαβών στους φωτοτύπους I και II, σε συνδυασμό με τη μεταλλαξιογόνο δράση τους, πιθανώς να ερμηνεύει την ισχυρή επιδημιολογική συσχέτιση μεταξύ του ηλιακού ερυθήματος/εγκαύματος και της καρκινογένεσης στα άτομα αυτά. Ακόμα μεγαλύτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η μελέτη των μοριακών και ανοσολογικών φαινομένων του δέρματος που συμβαίνουν με τη χρονία ή αθροιστική επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας (AR Young, προσωπική επικοινωνία, 2001). Οι περισσότερες μελέτες που έχουν γίνει μέχρι σήμερα βασίζονται σε βραχυχρόνιες εκθέσεις του δέρματος στην υπεριώδη ακτινοβολία και όχι σε χρόνιες ή επαναλαμβανόμενες ακτινοβολήσεις, που προσομοιάζουν περισσότερο με την ανθρώπινη συμπεριφορά στην ηλιακή ακτινοβολία. Οι μελλοντικές έρευνες θα εστιάσουν προς αυτή την κατεύθυνση, εξετάζοντας κυρίως την πιθανότητα μιας βαθμιαίας έκπτωσης των μηχανισμών αποκατάστασης του DNA λόγω της συνεχούς υπεριώδους έκθεσης, η οποία προδιαθέτει ορισμένα άτομα στην εκδήλωση του καρκίνου του δέρματος.

## ABSTRACT

### **The photochemical damage of DNA and its role in the biological effects of ultraviolet radiation on the skin**

A.J. STRATIGOS, C. ANTONIOU

*Photobiology Unit, Department of Dermatology, University of Athens, Medical School,*

*“A. Sygros” Hospital, Athens, Greece*

*Archives of Hellenic Medicine 2002, 19(2):141-152*

The exposure of human skin to ultraviolet radiation causes a wide range of cellular, biochemical and clinical changes which occur in an immediate or chronic setting. The changes result from complex molecular mechanisms which are initiated by the absorption of ultraviolet radiation from various different chromophores of the skin. The photochemical reactions induced in cellular DNA, one of the main cutaneous chromophores, lead to the formation of photoproducts such as cyclobutane dimers and 6-4 pyrimidine-pyrimidone dimers. The presence of photoproducts and the subsequent alterations in cell function contribute, through yet unclear mechanisms, to the development of certain acute and chronic effects of ultraviolet radiation on the skin, including sunburn erythema, pigmentation, immunosuppression and skin cancer. This article reviews the role of photoproducts on the photobiologic reactions of the skin and discusses possible implications for the improvement of photoprotection.

**Key words:** Cyclobutane dimers, DNA, Erythema, Immunosuppression, Photocarcinogenesis, Photoproducts, Pigmentation, Skin cancer, Sunscreens, 6-4 pyrimidine-pyrimidone dimers

## Βιβλιογραφία

- PRESTON DS, STERN RS. Non-melanoma cancers of the skin. *N Engl J Med* 1992, 327:1649–1662
- PATHAK MA. Ultraviolet radiation and the development of non-melanoma and melanoma skin cancer: clinical and experimental evidence. *Skin Pharmacol* 1991, 4(Suppl 1):85–94
- BLACK HS, DEGRIJL FR, FORBES JE. Photocarcinogenesis: an overview. *J Photochem Photobiol* 1997, B40:29–47
- BRASH DE, BALE AE. Molecular basis of skin cancer. *Dermatology Foundation* 1997, 31:1–12
- CLEAVER JE. Defective repair replication of DNA in xeroderma pigmentosum. *Nature* 1968, 218:652–656
- ALCALAY J, FREEMAN SE, GOLDBERG LH, WOLF JE. Excision repair of pyrimidine dimers induced by simulated solar radiation in the skin of patients with basal cell carcinoma. *J Invest Dermatol* 1990, 95:506–509
- YAROSH D, ALAS LG, YEE V. Pyrimidine dimer removal enhanced by DNA repair liposomes reduces the incidence of skin cancer in mice. *Cancer Res* 1992, 52:4227–4231
- KRIPKE ML. Immunologic mechanisms in UV radiation carcinogenesis. *Adv Cancer Res* 1981, 34:69–106
- YOUNG A. The molecular and genetic effects of ultraviolet radiation exposure on skin cells. In: Hawk JLM (ed) *Photodermatology*. Chapman & Hall, London, 1988:26–42
- BRASH DE. UV mutagenic protoproducts in *E. coli* and human cells: A molecular genetics perspective on human skin cancer. *Photochem Photobiol* 1988, 48:59–66
- MITCHELL DL, NAIRN RS. The biology of (6-4) photoproduct. *Photochem Photobiol* 1989, 49:805–819
- ROSEN JE, PRAHALAD AK, WILLIAMS GM. 8-oxodeoxyguanosine formation in the DNA of cultured cells after exposure to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> alone or with UVB or UVA radiation. *Photochem Photobiol* 1996, 64:117–122
- SARASIN A. The molecular pathways of ultraviolet-induced carcinogenesis. *Mutat Res* 1999, 428:5–10
- DROBETSKY EA, TURCOTTE J, CHATEAUNEUF A. A role for ultraviolet A in solar mutagenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995, 92:2350–2354
- MA L, HOEIJMAKERS JHH, VAN DER EB AJ. Mammalian nucleotide excision repair. *Biochim Biophys Acta* 1995, 1242:137–164
- SETLOW RB, SWENSON PA, CARRIER WL. Thymine dimers and inhibition of DNA synthesis by ultraviolet radiation of cells. *Science* 1963, 142:1464–1466
- YOUNG AR, CHADWICK CA, HARRISON GL. The *in situ* repair kinetics of epidermal thymine dimers and 6-4 photoproducts in human skin types I and II. *J Invest Dermatol* 1996, 106:1307–1313
- LEY RD. Photoreactivation of UV-induced pyrimidine dimers and erythema in the marsupial *Monodelphis domestica*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985, 82:2409–2411
- CHADWICK CA, POTTEN CS, NIKAIIDO O. The detection of cyclobutane thymine dimers, (6-4) photolesions and the Dewar photo-isomers in sections of UV-irradiated human skin using specific antibodies, and the demonstration of depth penetration effects. *J Photochem Photobiol* 1995, 28:163–170
- YOUNG AR, CHADWICK CA, HARRISON GI, NIKAIIDO O, RAMSDEN J, POTTEN CS. The similarity of action spectra for thymine dimers in human epidermis and erythema suggests that DNA is the chromophore for erythema. *J Invest Dermatol* 1998, 111:982–988
- MATSANUGA T, HIEDA K, NIKAIIDO O. Wavelength dependent formation of thymine dimers and (6-4) photoproducts in DNA by monochromatic ultraviolet light ranging from 150 to 365 nm. *Photochem Photobiol* 1991, 54:403–410
- REUSCH MK, MEAGER K, LEADON SA, HANAWALT PC. Comparative removal of pyrimidine dimers from human epidermal keratinocytes *in vivo* and *in vitro*. *J Invest Dermatol* 1988, 91:349–352
- BRUZE M, EMMETT EA, CREASEY J, STRICKLAND PT. Cyclobutane-dithymidine induction by solar-simulating UV radiation in human skin: II. Individual responses. *J Invest Dermatol* 1989, 93:341–344
- RUVEN HJ, SELLEN CM, LOHMAN PH. Strand-specific removal of cyclobutane pyrimidine dimers from the p53 gene in the epidermis of UVB-irradiated hairless mice. *Oncogene* 1994, 9:3427–3432
- BYKOV VJ, SHEEHAN JM, HEMMINSKI K, YOUNG AR. *In situ* repair of cyclobutane pyrimidine dimers and 6-4 photoproducts in human skin exposed to solar simulating radiation. *J Invest Dermatol* 1999, 112:326–331
- VINK AA, STRICKLAND FM, BUCANA C. Localization of DNA damage and its role in altered antigen-presenting cell function in ultraviolet-irradiated mice. *J Exp Med* 1996, 183:1491–1500
- YOUNG AR, POTTEN CS, NIKAIIDO O. Human melanocytes and keratinocytes exposed to UVB or UVA *in vivo* show comparable levels of thymine dimers. *J Invest Dermatol* 1998, 111:936–940
- SETLOW RB, GRIST E, THOMPSON K, WOODHEAD AD. Wavelengths effective in induction of malignant melanoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993, 90:6666–6670
- ELWOOD JM. Melanoma and sun exposure. *Semin Oncol* 1996, 23:650–666
- YAROSH DB, KLEIN K, KIBITEL J. Enzyme therapy of xeroderma pigmentosum: safety and efficacy testing of T4N5 liposome lotion containing a procaryotic DNA enzyme. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 1996, 12:122–130
- GILCHREST BA, ZHAI S, ELLER MS. Treatment of human melanocytes and S91 melanoma cells with the DNA repair enzyme T4 endonuclease V enhances melanogenesis after ultraviolet radiation. *J Invest Dermatol* 1993, 101:666–672
- ELLER MS, MAEDA T, MAGNONI C, ATWAL D, GILCHREST BA. DNA damage and melanogenesis. *Nature* 1994, 372:413–414
- GILCHREST BA, ELLER MS. DNA photodamage stimulates melanogenesis and other photoprotective responses. *J Invest Dermatol Symp Proc* 1999, 4:35–40
- ELLER MS, MAEDA T, MAGNONI C, ATWAL D, GILCHREST BA. Enhancement of DNA repair in human skin cells by thymidine dinucleotides: evidence for a p53-mediated mammalian SOS response. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997, 94:12627–12632
- WALKER GC. Mutagenesis and inducible responses to deoxyribonucleic acid damage in *Escherichia coli*. *Microbiol Rev* 1984, 48:60–93
- KELLY DA, YOUNG AR, MCGREGOR JM, SEED PT, POTTEN CS, WALKER SL. Sensitivity to sunburn is associated with susceptibility to ultraviolet radiation-induced suppression of cutaneous cell-mediated immunity. *J Exp Med* 2000, 191:561–566
- WALKER SL, TSANG W, CHADWICK J. DNA damage, cytokine release and alloantigen presentation *in vivo* and their relationship to skin

- type in humans exposed to solar simulated ultraviolet radiation. *Photochem Photobiol* 1998, 67:71 (Abstract)
38. GROSSMAN D, LEFFEL D. The molecular basis of non-melanoma skin cancer. A new understanding. *Arch Dermatol* 1997, 133:1263–1270
  39. APPELGADE LA, LEY RD, ALCALAY J, KRIPKE ML. Identification of the molecular target for the suppression of contact hypersensitivity by ultraviolet radiation. *J Exp Med* 1989, 170:1117–1131
  40. WOLF P, MAIER H, MULLEGGER RR. Topical treatment with liposomes containing T4 endonuclease V protects human skin *in vivo* from ultraviolet-induced upregulation of interleukin-10 and tumor necrosis factor- $\alpha$ . *J Invest Dermatol* 2000, 114:149–156
  41. LEVINE AJ. P53, the cellular gatekeeper for cell growth and division. *Cell* 1997, 88:323–331
  42. ΣΤΡΑΤΗΓΟΣ ΑΙ, ΑΝΤΩΝΙΟΥ Χ. Η μοριακή βάση της φωτοκαρκινογένεσης. *Ιατρική* 2000, 77:432–446
  43. GREENBLATT MS, BENNETT WP, HOLLSTEIN M, HARRIS CC. Mutations in the *p53* tumor suppressor gene: clues to cancer etiology and molecular pathogenesis. *Cancer Res* 1994, 54:4855–4878
  44. BRASH DE, RUDOLPH JA, SIMON JA. A role for sunlight in skin cancer: UV induced *p53* mutations in squamous cell cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991, 88:10124–10128
  45. ZIEGLER A, LEFFELL DJ, KUNALA S. Mutation hotspots due to sunlight in the *p53* gene of non-melanoma skin cancers. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993, 90:4216–4220
  46. TORNALETTI S, PFEIFER GP. Slow repair of pyrimidine dimers at *p53* mutation hotspots in skin cancer. *Science* 1995, 263:1436–1438
  47. JONASON AS, KUNALA AS, PRICE JL. Frequent clones of *p53*-mutated keratinocytes in normal human skin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996, 93:14025–14029
  48. POLLOCK PM, YU F, QUI L. Evidence for UV induction of *CDKN2* mutations in melanoma cell lines. *Oncogene* 1995, 11:663–668
  49. JOHNSON RL, ROTHMAN AL, XIE J. Human homolog of patched, a candidate gene for the basal cell nevus syndrome. *Science* 1996, 272:1668–1671
  50. NAYLOR MF, BOYD A, SMITH DW, CAMERON GS, HUBBARD D, NELDER KH. High factor sunscreen in the suppression of actinic neoplasia. *Arch Dermatol* 1995, 131:170–175
  51. WOLF P, YAROSH DB, KRIPKE ML. Effects of sunscreen and a DNA repair enzyme on ultraviolet radiation-induced inflammation, immune suppression, and cyclobutane pyrimidine dimer formation in mice. *J Invest Dermatol* 1993, 101:523–527
  52. ANATHASWAMY HN, LOUGHLIN SM, COX P, EVANS RL, ULLRICH SE, KRIPKE ML. Sunlight and skin cancer: inhibition of *p53* mutations in UV-irradiated mouse skin by sunscreens. *Nat Med* 1997, 3:510–514
  53. YOUNG AR, SHEEHAN JM, CHADWICK CA, POTTEN CS. Protection by ultraviolet A and B sunscreens against *in situ* dipyridimine photolesions in human epidermis is comparable to protection against sunburn. *J Invest Dermatol* 2000, 115:37–41
  54. YAROSH D, KLEIN J, O'CONNOR A, HAWK J, RAFAL E, WOLF P. Effect of topically applied T4 endonuclease V in liposomes on cancer in xeroderma pigmentosum: a randomised study. Xeroderma Pigmentosum Study Group. *Lancet* 2001, 357:926–929

*Corresponding author:*

A.J. Stratigos, Photobiology Unit, "A. Sygros" Hospital, 5 Dragoumi street, GR-161 21 Kesariani, Athens, Greece  
e-mail: alstrat@hol.gr