

Diversité des peaux du monde : de la clinique à la chimie, en passant par les peaux reconstruites

Sandra Del Bino est biologiste et travaille dans les laboratoires de recherche de L'Oréal¹ depuis 1994. Sa spécialité est de comprendre l'impact du rayonnement solaire sur la peau, et en particulier sur les peaux du monde dans leur diversité. Ses études l'ont entre autres conduite à travailler sur des peaux reconstruites.

1 Les caractéristiques de la pigmentation constitutive de la peau

1.1. Évolution historique de la couleur de peau dans la population mondiale

La variation de la couleur de la peau est le plus visible des polymorphismes²

humains ; il résulte d'une adaptation aux expositions aux ultra-violetts (UV). Avant les grandes migrations humaines, la sélection naturelle a favorisé les peaux foncées dans les populations vivant proche de l'Équateur (**Figure 1**), qui étaient exposées à un niveau élevé d'UV, en particulier d'UVB, et les peaux plus claires dans les populations plus éloignées de l'Équateur, plus proches des pôles et donc recevant moins d'UVB.

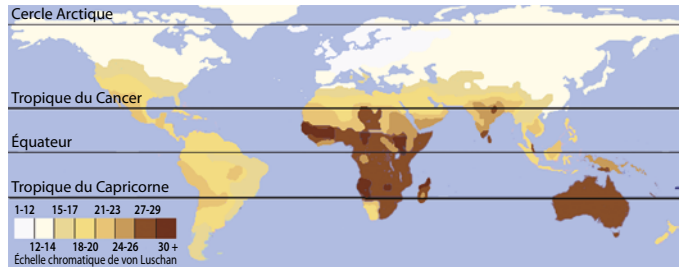
1. www.loreal.fr

2. Polymorphisme : variations entre individus d'une même espèce dues à l'existence de plusieurs allèles pour un même gène.

Figure 1

Répartition des différentes couleurs de peau dans le monde. Données collectées par Renato Biasutti pour les populations natives avant 1940.

Source : adapté de Barsh (2003), *PlosBiology*.



La génétique des populations, par l'analyse des fréquences alléliques³, retrace l'évolution de la pigmentation humaine pour les trois populations illustrées sur la *Figure 2* : africaine, asiatique de l'Est et européenne du Nord. Au départ, un lointain ancêtre de l'*Homo Sapiens*, qui vivait en Afrique, avait la peau couverte de poils et de couleur claire, un peu comme les grands primates aujourd'hui ou les chimpanzés qui ont la peau claire et des poils. Ensuite, en concomitance avec la perte de poils, la sélection naturelle a favorisé une peau plus pigmentée justement pour protéger des UV.

Dans une phase ultérieure, on a eu la divergence entre les populations africaine et asiatique/européenne : c'est ce qu'on appelle l'expansion hors d'Afrique. Plus tard, une nouvelle divergence est intervenue, entre les populations asiatiques et les populations d'Europe du Nord avec des éclaircissements de la peau, intervenus probablement de manière indépendante. Listés en orange sur la figure sont les gènes

qu'on connaît aujourd'hui pour avoir subi une pression sélective, ce qui a permis de retracer l'histoire de ces évolutions.

La *Figure 3* indique la distribution des fréquences alléliques de deux gènes liés à la pigmentation dans la population mondiale ; en jaune sont les fréquences alléliques associées aux peaux plus claires. L'étude de leurs distributions permet de dire que les populations asiatique et européenne du Nord ont toutes deux évolué vers des peaux claires, mais de façon indépendante. C'est ce qu'en évolution on appelle une convergence.

1.2. La peau : de sa composition aux conséquences des expositions UV

1.2.1. Description biologique et biochimique de la peau

La peau est un épithélium⁴ stratifié (*Figure 4A*). L'épiderme en est la couche superficielle, d'une épaisseur moyenne de 50 à 100 microns, composée essentiellement

3. Un allèle est une version variable d'un même gène. Ces variations sont le résultat des mutations qui apparaissent au sein d'une même espèce.

4. Épithélium : tissu fondamental dans lequel les cellules sont étroitement juxtaposées et solidaires.

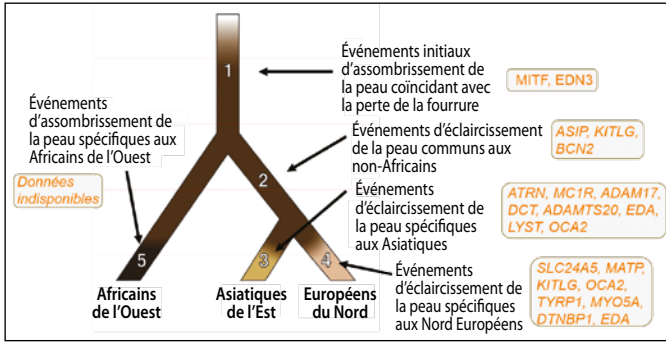


Figure 2

Évolutions majeures dans l'histoire de la pigmentation de la peau humaine pour trois populations. En orange : les gènes qui affectent la pigmentation.

Source : adapté de McEvoy et coll. (2006). *Hum Mol Genet.*

de kératinocytes⁵. Sous l'épiderme, se trouve le derme, d'environ 1 000 microns d'épaisseur, qui est composé de fibroblastes⁶ et également

d'une matrice extracellulaire, mélange d'un ensemble de collagènes⁷, de fibres élastiques, de protéoglycanes⁸ et d'autres protéines. Au niveau du derme, se trouvent également les vaisseaux sanguins, les terminaisons nerveuses

5. Kératinocytes : cellules constituant 90 % de la couche superficielle de la peau (épiderme) et des phanères (ongles, cheveux, poils, plumes, écailles). Ils synthétisent les kératines, protéines fibreuses et insolubles dans l'eau, qui assurent à la peau sa propriété d'imperméabilité et de protection extérieure.

6. Fibroblastes : cellules fusiformes ou étoilées possédant de longs prolongements cytoplasmiques présents dans les nombreux tissus conjonctifs de l'organisme : dans la peau, les tendons, le cartilage, etc. Les fibroblastes synthétisent les macromolécules protéiques et polysaccharidiques de la matrice extracellulaire du tissu conjonctif. Ils sont aussi capables de sécréter de nombreuses autres molécules (cytokines, facteurs de croissance,

enzymes) et jouent un rôle important dans les processus de réparation tissulaire ou dans l'entretien des réactions inflammatoires.

7. Collagène : protéine essentielle à la constitution des tissus conjonctifs (tissus de soutien) se présentant sous la forme de fibres permettant une certaine résistance des tissus à l'élasticité lorsque ceux-ci sont étirés.

8. Protéoglycanes : constitués d'une protéine sur laquelle sont greffées des chaînes glycosaminoglycanes, les protéoglycanes sont des composants essentiels de la matrice extracellulaire (ensemble de macromolécules situées entre les cellules d'un tissu).

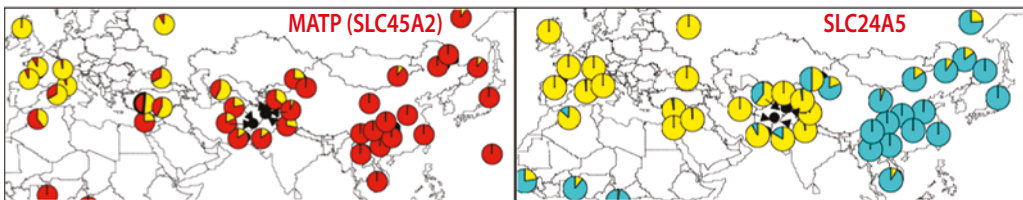


Figure 3

Répartition sur la surface du globe des fréquences alléliques de deux gènes impliqués dans la couleur de la peau. En jaune sont les fréquence alléliques associées aux peaux claires.

Source : adapté de Norton et coll. (2007). *Mol. Biol. Evol.*

et les cellules inflammatoires. Sous le derme, enfin, se trouve l'*hypoderme*, composé essentiellement d'adipocytes⁹.

Épithélium pluristratifié kératinisé, l'épiderme (*Figure 4B*) est essentiellement constitué de *kératinocytes*, qui représentent 90 % de ses cellules. Les kératinocytes de la couche basale sont les kératinocytes prolifératifs qui, en se divisant, donnent lieu aux couches suprabasales de l'épiderme ; ces kératinocytes suprabasaux sont engagés dans un processus de différenciation terminale, processus irréversible qui va aboutir à la formation de la couche cornée.

L'épiderme contient également les mélanocytes, cellules qui synthétisent la mélanine, les cellules de Langerhans, qui jouent un rôle immunitaire, et les cellules de Merkel, qui sont des cellules neuroendocriniennes. Le mélanocyte produit de la mélanine dans des organelles¹⁰ qu'on appelle les mélanosomes et qui sont ensuite transférés aux kératinocytes avoisinant. Un mélanocyte approvisionne en moyenne une quarantaine de kératinocytes. C'est ce que l'on appelle l'unité de pigmentation (*Figure 4C*).

La pigmentation constitutive de la peau, c'est notre couleur naturelle, elle est due à

9. Adipocytes : cellules situées dans les tissus adipeux et spécialisées dans le stockage des graisses. Elles constituent une partie des réserves en énergie.

10. Organelles : chacun des éléments différenciés contenus dans le cytoplasme cellulaire (exemples : les mitochondries, l'appareil de Golgi, les lysosomes, le reticulum endoplasmique, les endosomes).

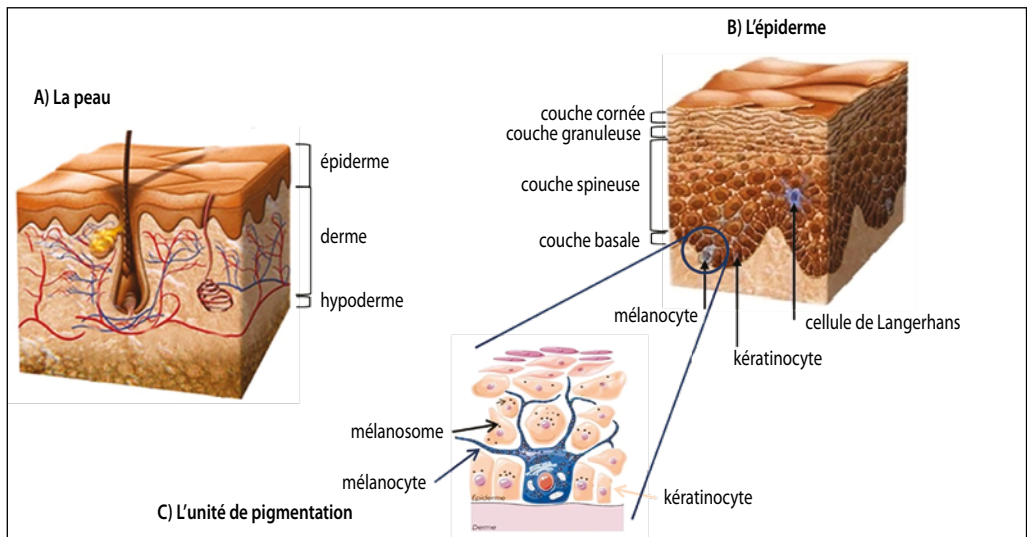


Figure 4

Composition et structuration de la peau, de l'épiderme et de l'unité de pigmentation.

la nature des mélanines qui sont synthétisées. La mélanine est un mélange de polymères issus d'un précurseur commun, la tyrosine, qui, sous l'action de l'enzyme tyrosinase, est convertie en dopaquinone ; à partir de la dopaquinone, on a deux voies de synthèse indépendantes selon qu'il y a ou non présence de cystéine (Figure 5). En absence de cystéine, il y a formation de l'eumélanine, un pigment brun-noir, et en présence de cystéine, synthèse de phéomélanine, un pigment jaune-orangé. Ces deux mélanines ont des propriétés différentes. Il est communément admis que l'eumélanine est photoprotectrice puisqu'elle limite la pénétration des UV dans l'épiderme et piège les radicaux libres¹¹ créés par l'ex-

position UV. Par contre, la phéomélanine est non seulement peu protectrice mais elle est phototoxique parce qu'elle augmente la production des espèces radicalaires après l'exposition UV. C'est ce mélange, cette qualité des mélanines, qui détermine principalement la couleur de la peau – bien qu'il y ait aussi d'autres composantes : les caroténoïdes¹², l'oxyhémoglobine et la désoxyhémoglobine, qui jouent un certain rôle. Finalement, ce qui fait la couleur de la peau ce sont la nature et la quantité des mélanines produites ainsi que leur distribution (Figure 6). Une peau claire a des mélanosomes plus petits, formés en agrégats, présents surtout au niveau de la couche basale, alors que les peaux foncées ont des mélanosomes beaucoup plus grands, plus fortement

11. Radicaux libres : espèces chimiques instables et donc très réactives produites par l'organisme notamment lors de l'exposition solaire. Ces espèces pourraient être impliquées dans le vieillissement de la peau. Voir le **Chapitre de L. Marrot**, dans cet ouvrage *Chimie, dermo-cosmétique et beauté*, EDP Sciences, 2017.

12. Caroténoïdes : pigments jaune-orange naturellement présents dans de nombreux organismes vivants et aux propriétés antioxydantes. Les caroténoïdes comprennent entre autres le bêta-carotène, présent dans les carottes.

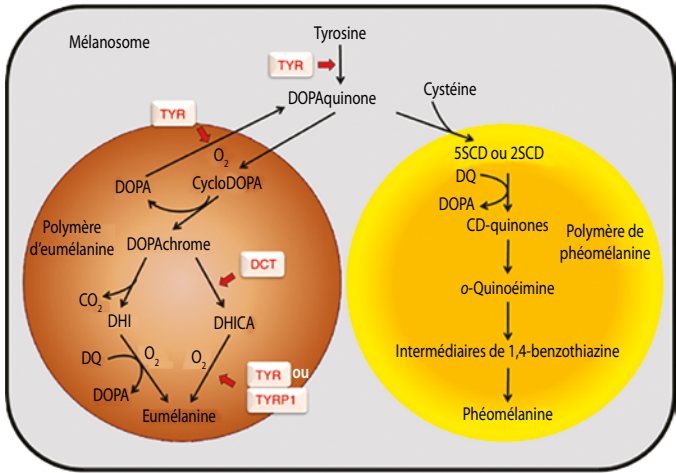


Figure 5

Deux types de mélanine : l'eumélanine (à gauche en marron) photoprotectrice et la phéomélanine (à droite en jaune-orangé) phototoxique.

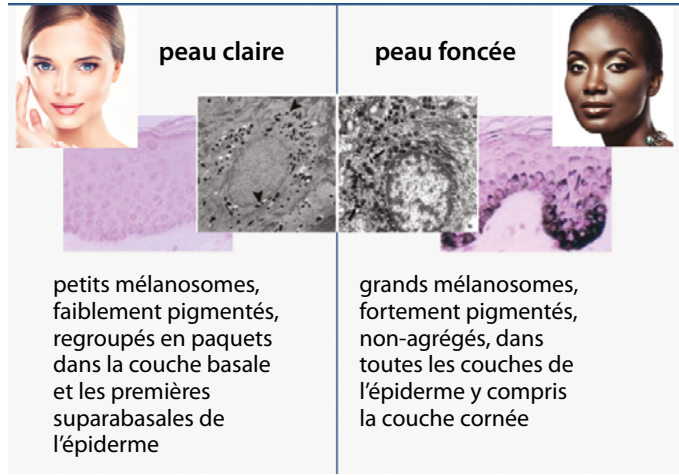


Figure 6

Comparaison des mélanosomes entre une peau claire et foncée.

Source : images L'Oréal et adapté de Thong et coll. (2003) *British. J. Dermatol.*

pigmentés, non agrégés, et on peut les retrouver de la couche basale jusque dans les couches suprabasales et dans la couche cornée.

1.2.2. Conséquence de l'exposition de la peau aux UV

Les expositions aux UV ont des conséquences délétères sur la peau à court et long terme. À court terme, l'exposition de la peau à des doses significatives d'UV est responsable du « coup de soleil » (Figure 7A), caractérisé par un érythème (une rougeur), qui peut être accompagné d'un œdème et qui est dû à une vasodilatation.

Le coup de soleil est un effet aigu de l'exposition UV avec un pic à 8-24 h, après quoi il disparaît.

Les UV ont également des conséquences à long terme, et c'est la répétition des expositions, accompagnées ou non d'érythèmes, qui en est responsable. Il s'agit par exemple du photovieillissement, une accélération du vieillissement chronologique. La Figure 7B montre la photo d'une assistante qui a travaillé pendant des décennies à son bureau derrière une vitre avec la moitié du visage exposée aux UV car les UV, et notamment

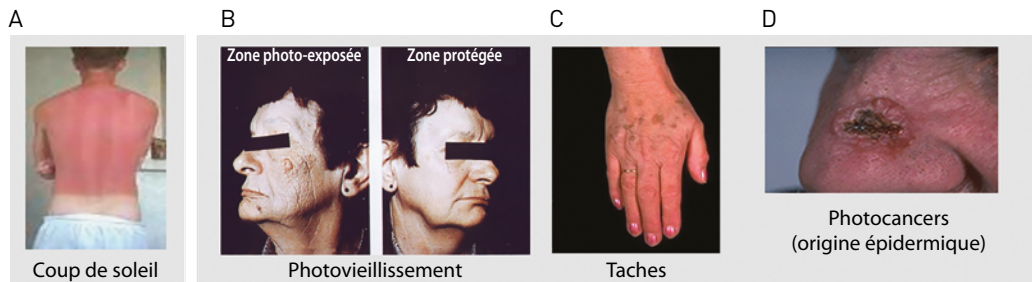


Figure 7

Conséquences cliniques des expositions UV.

Source : 7B : Pr. Moulin (Lyon).

les UVA, passent à travers le verre, et l'autre moitié est protégée. On voit la superposition des effets du photovieillissement au vieillissement chronologique ; la partie exposée paraît environ vingt ans plus vieille que la partie protégée ; elle présente également les signes cliniques de photovieillissement, aspect tanné comme du cuir, avec des rides très profondes.

Une autre conséquence de l'exposition UV est l'apparition dans les zones exposées – donc le visage ou les mains – de taches d'hyper- ou d'hypopigmentation (les désordres pigmentaires) (Figure 7C). Plus dramatique, l'exposition aux rayons UV est à l'origine des cancers photo-induits (Figure 7D) : les *carcinomes*, qui sont d'origine kératinocytaire, ou le *mélanome* d'origine mélanocytaire, un cancer beaucoup plus agressif avec un pronostic vital beaucoup moins bon et qui encore aujourd'hui occasionne de nombreux décès.

Nous ne sommes pas tous égaux par rapport à l'exposition solaire et les conséquences des expositions UV ont une grande variabilité individuelle. De nombreux facteurs entrent en compte : la pigmentation constitutive, qui est notre couleur de peau naturelle, également l'âge (les enfants ou les personnes âgées sont plus sensibles à l'exposition UV), la prise de médicaments (certains médicaments sont photosensibilisants), et notre polymorphisme génétique. Dans tout cela, la pigmentation constitutive est un des facteurs majeurs de cette sensibilité individuelle

aux UV. En ce qui concerne le photocancer par exemple, on sait, par les données épidémiologiques, qu'il y a un lien fort entre la couleur de la peau et la sensibilité aux photocancers. Une étude américaine a montré qu'aux États-Unis, l'incidence des carcinomes basocellulaires et spinocellulaires est cinquante fois plus élevée dans la population caucasienne à peau claire que chez les afro-américains, et que l'incidence du mélanome était treize fois supérieure à celle des afro-américains.

En termes de photovieillissement, on sait que l'élastose solaire, les altérations dermiques et la formation des rides varient avec la pigmentation constitutive. Les signes du photovieillissement apparaissent plus tôt dans les peaux claires que dans les peaux foncées, et les populations caucasiennes développent des rides plus tôt que les africaines. Des études *in vivo* chez l'homme ont montré la variabilité de la dose minimale érythémale (DEM), qui est la dose capable d'induire un érythème juste perceptible, une rougeur de la peau. Cette DEM varie avec la pigmentation constitutive et l'origine ethnique de l'individu : elle est plus faible pour les peaux plus claires ; également à la DEM, on a beaucoup plus de dégâts à l'ADN chez les peaux claires que chez les peaux foncées. Par ailleurs, on sait que les désordres pigmentaires sont liés à la pigmentation constitutive ; l'apparition de ces dégâts est plus fréquente dans certaines populations à la peau modérément pigmentée comme les asiatiques.

1.3. Classifications des peaux du monde

Pour classer la pigmentation constitutive, la couleur naturelle de la peau, on utilise depuis les années 1970 la classification de Fitzpatrick (Figure 8). Elle distinguait, dans les peaux caucasiennes, quatre phototypes avec une sensibilité décroissante aux coups de soleil et une capacité croissante au bronzage. Plus tard, Thomas Fitzpatrick a rajouté le phototype V, qu'il a appelé « modérément pigmenté », regroupant les individus d'origine asiatique, d'Amérique latine, et le phototype VI, « fortement pigmenté », pour les individus d'origine africaine.

Cette classification présente certains inconvénients. Elle est basée sur un questionnaire donc auto-déclarative, et fait appel à la mémoire sur l'évaluation de la sensibilité aux coups de soleil et sur la capacité à bronzer. Ce n'est ni très quantitatif ni très objectif. De plus, cette classification prend en compte l'origine ethnique et aujourd'hui, avec la mixité croissante, on sait que l'origine ethnique n'est plus un critère représentatif des populations. Enfin, cette

classification n'est pas applicable à tous les types de peau.

On utilise maintenant une autre classification, la classification colorimétrique. Les couleurs peuvent être représentées dans un espace à trois dimensions, le système « L^*, a^*, b^* » [CIE, Commission Internationale de l'Éclairage, 1976] (Figure 9). La composante L^* (pour Luminance) est le niveau de gris (de blanc à noir). La composante a^* varie du rouge au vert et est corrélée à l'érythème (en situation de « coup de soleil », la composante a^* a tendance à croître). La composante b^* jaune-bleue augmente avec la pigmentation constitutive. La mesure de ces paramètres permet de classer la peau (voir la Figure 10).

Avec un spectrocolorimètre, un petit appareil portable, on peut mesurer ces paramètres de la peau (le L^* , le a^* et le b^*) ; pour un L^* donné et un b^* donné, on peut calculer un angle typologique individuel, l'ITA, selon la formule $ITA^\circ = (\text{ATAN} (L^* - 50) / b^*) \times 180 / 3.14159$, qui permet de classer la peau dans un de ces six groupes : très claire, claire, intermédiaire, mate, brune et foncée (Figure 10A). Avec la

Phototype	Caractéristique	
I	brûle, ne bronze pas	caucasiens
II	brûle, bronze légèrement	
III	brûle légèrement, bronze bien	
IV	ne brûle pas, bronze intensément	
V	modérément pigmenté	asiatiques, amérindiens, mexicains, portoricains africains
VI	fortement pigmenté	

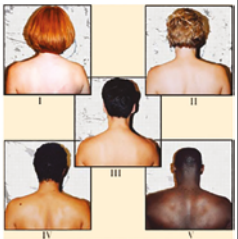


Figure 8

Classification des six phototypes de Fitzpatrick.

coloration de Fontana Masson (Figure 10B), qui est une coloration argentique spécifique des grains de mélanine, on peut observer que la classification de prélèvements en fonction de l'ITA correspond à des différences de quantité et de distribution de la mélanine. L'ITA est totalement quantitatif et complètement objectif. Il affranchit complètement de l'origine ethnique de l'individu et permet une classification adaptée à tous les types de peaux.

Pour valider la pertinence de cette classification, on a mesuré l'ITA sur les joues de 3 500 femmes dans le monde dans leur pays de résidence : en France, aux États-Unis, au Brésil, au Mexique, en Russie, en Chine, en Corée, au Japon, en Thaïlande et en Inde.

La cartographie des ITA des femmes du monde est résumé sur la Figure 11: les femmes

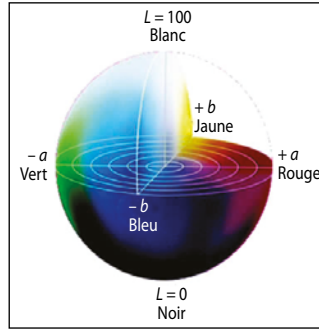


Figure 9
Représentation tridimensionnelle du système L*, a*, b*.

caucasiennes vivant aux États-Unis ou en France ont la peau claire, intermédiaire et mate ; les femmes d'origine africaine qui vivent aux États-Unis ou en France ont la peau plutôt intermédiaire jusqu'à foncée, et les femmes hispaniques ou brésiliennes ont une peau plus hétérogène puisqu'elle couvre les typologies de couleur de peau de claire à brune.

En regardant de façon plus détaillée les mesures d'ITA

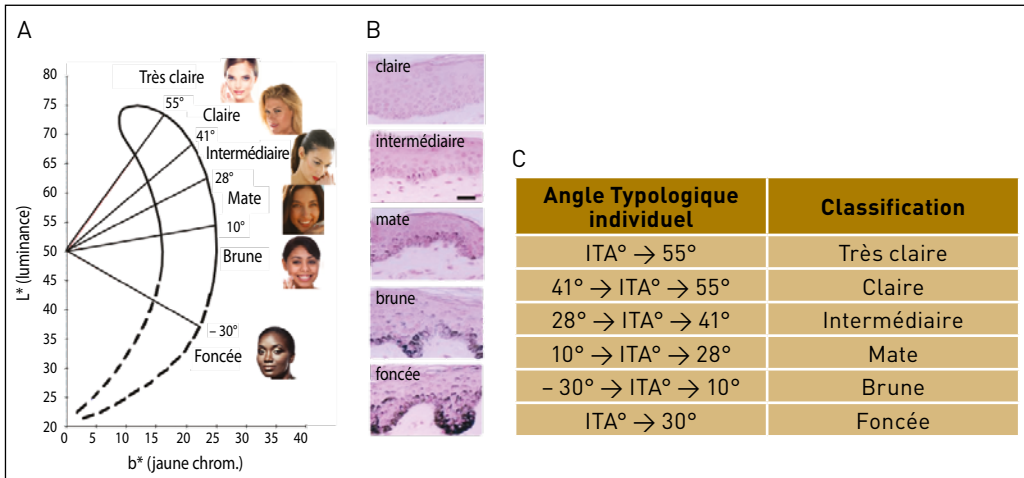


Figure 10

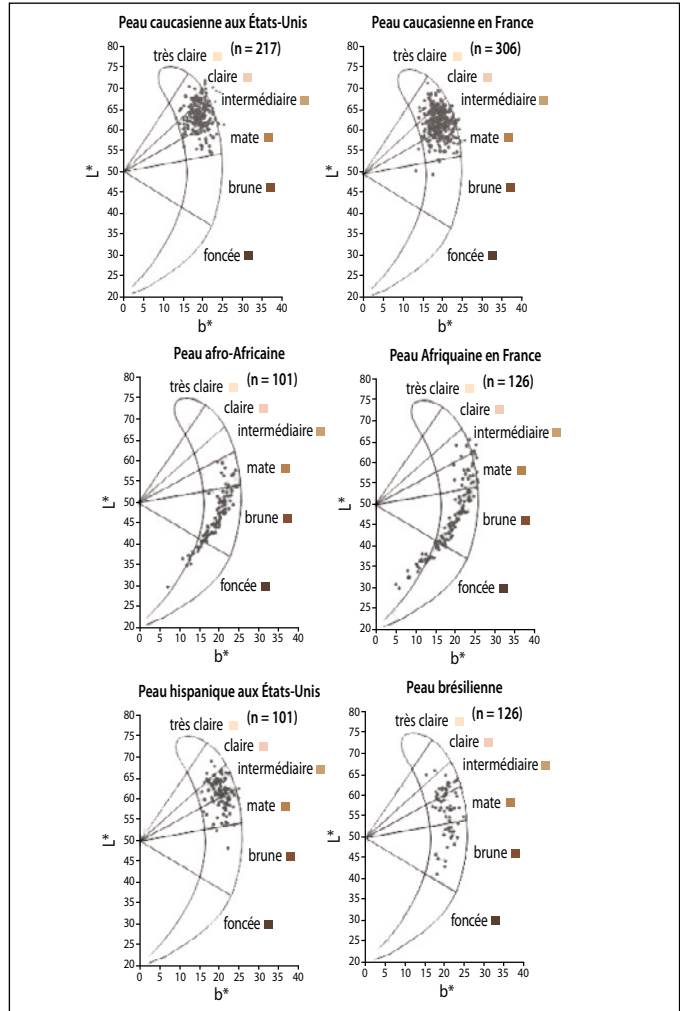
A) Volume des couleurs de peau sur le plan L* et b*; B) Coloration Fontana Masson ; C) Correspondance entre les valeurs de l'ITA et le type de peau.

Source : Chardon et coll. (1991). Int. J. Cosmet. Sci. ; Del Bino et coll. (2006). Pigment Cell. Res., 19 (6) : 606-14.

Figure 11

Classification colorimétrique de la peau de femmes vivant aux États-Unis, en France et au Brésil grâce à la mesure de l'ITA.

Source : Del Bino, Bernerd (2013). *British. J. Dermatol.*, 169 (S3) : 33-40.



dans les pays d'Asie (Figure 12), on voit qu'au Nord (Japon, Chine et Corée), on trouve plutôt des peaux claires : entre claire, intermédiaire et mate, alors que la classification de Fitzpatrick les classait toutes dans un phototype V, donc plutôt pigmenté ; les peaux indiennes sont en revanche beaucoup plus hétérogènes puisqu'elles couvrent des typologies qui vont de claire à foncée. Ce travail permet d'établir que cette nouvelle classification est pertinente physiologiquement et correspond bien à

une réalité. Elle permet également de prendre en compte la diversité des pigmentations des populations du monde afin de proposer une photoprotection personnalisée et adaptée à chaque type de peau.

2 Quel est le lien entre pigmentation constitutive et sensibilité UV ?

2.1. Analyse de l'impact des UV sur la peau

Lorsque la peau est exposée aux UV, l'ADN absorbe le

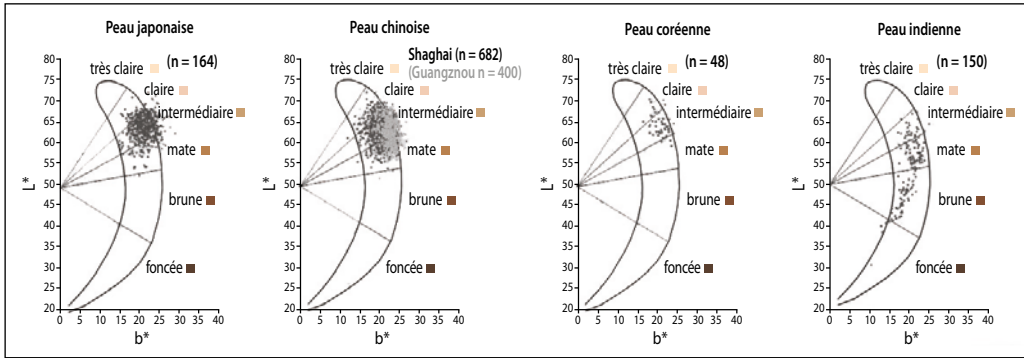


Figure 12

Classification colorimétrique de la peau de femmes vivant dans les pays d'Asie grâce à la mesure de l'ITA.
 Source : Del Bino, Bernerd [2013]. *British. J. Dermatol.*, 169 (S3) : 33-40.

rayonnement (l'ADN est un chromophore pour les UVB), et cela entraîne la formation de lésions de l'ADN, les dimères de pyrimidines (les CPD), qui le modifient et rigidifient sa structure. Ces lésions entravent sa répliation et peuvent entraîner la formation de mutations : c'est le mécanisme de base du pouvoir cancérogène des UV.

La présence de lésions stimule la phosphorylation de la protéine P53, codée par le gène suppresseur de tumeurs P53 ; cette phosphorylation permet l'accumulation de la protéine P53 qui arrête le cycle cellulaire, ce qui permet à la cellule de réparer les dégâts à l'ADN.

Cependant, lorsque les dégâts sont trop importants et que la cellule n'est pas capable de les réparer, elle entre en apoptose, un processus de mort cellulaire programmée. Au niveau de la peau, on observe alors ces cellules caractéristiques qu'on appelle les « sunburn cells » [cellules « coup de soleil »] (Figure 13),

des kératinocytes apoptotiques qui apparaissent dans les couches suprabasales de l'épiderme vingt-quatre heures après l'exposition UV et sont corrélés cliniquement à l'érythème.

Ces cellules ont un aspect très caractéristique, un noyau condensé, un cytoplasme réfringent¹³, et l'on peut facilement les quantifier au microscope. La quantification de ces « sunburn cells » est à la base de la définition de la dose biologiquement efficace (BED), qui est la dose capable d'induire une « sunburn cell » par unité de longueur de l'épiderme. En fait, la BED est un équivalent *in vitro* de la DEM *in vivo* car les SBC apparaissent à 1 MED.

13. Réfringent : caractérise un corps capable de réfracter la lumière.

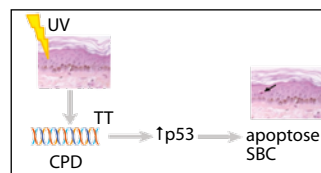


Figure 13

Mécanisme d'apparition des « sunburn cells » (SBC).

Le travail a été réalisé avec une quarantaine de prélèvements de peaux provenant de chirurgie plastique (ce qu'on appelle de la peau *ex vivo*), et on a caractérisé leur couleur par l'ITA. Les prélèvements représentatifs de toutes les typologies de couleur de peau ont été exposés à des doses croissantes d'UV (simulation solaire riche en UVB). On a observé l'accumulation de ces « cellules coups de soleil » après UV (Figure 14A) et on a pu constater qu'elles étaient présentes dans toutes les typologies de couleur de peau. Évidemment, il fallait une dose plus importante pour induire ces cellules dans les peaux foncées par rapport aux peaux claires. Pour chaque typologie de couleur de peau on a quantifié les cellules « coups de soleil » et défini la BED. Résultat : plus la peau est foncée, plus la BED est élevée, confirmant les données

obtenues avec la DEM *in vivo*. Plus précisément, on a mis en évidence une corrélation significative entre l'ITA (donc la couleur de la peau) et la BED (Figure 14B).

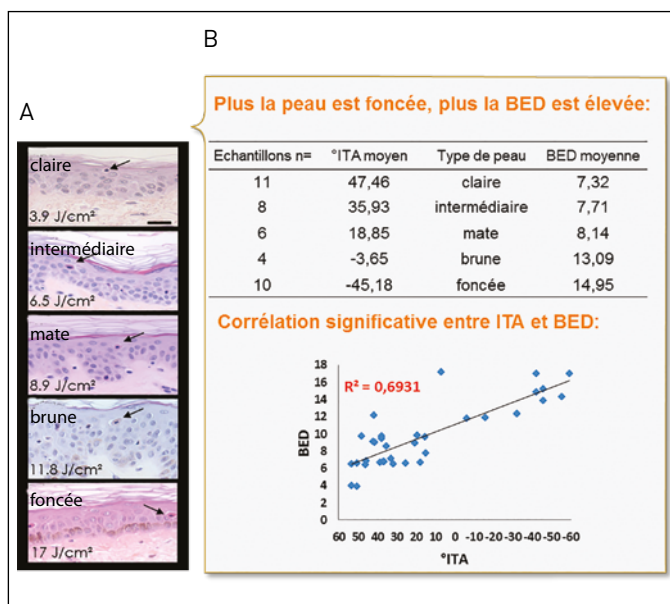
On a également étudié les dégâts à l'ADN (les dimères de pyrimidine), induits par l'exposition UV. Avec un anticorps dirigé contre les dimères de pyrimidine, on a marqué en vert tous les noyaux qui ont accumulé des dégâts au sein de leur ADN, dégâts présents dans toutes les typologies de couleur de peau mais de nouveau induits par des doses plus importantes pour les peaux foncées que pour les peaux claires (Figure 15).

Dans les peaux claires à mates, les CPD sont présents dans toutes les couches de l'épiderme, de la couche basale aux couches suprabasales, ainsi que dans le derme superficiel. Des lésions au niveau de la couche basale

Figure 14

Mise en évidence du lien entre couleur de peau (ITA, angle typologique individuel) et (BED, dose biologiquement efficace) basée sur l'apparition de « sunburn cells »

Source : Del Bino et coll. (2006). *Pigment. Cell. Res.* 19(6) : 606-14.



peuvent donc potentiellement causer le développement de cancers photo-induits, carcinomes, mélanomes ou de taches de pigmentation. L'atteinte du derme superficiel pourrait expliquer la plus grande sensibilité de ces peaux claires au photovieillessement.

Dans les peaux brunes et foncées, on trouve des CPD dans les couches suprabasales, mais la couche basale n'est pas marquée. Un dégât présent dans les couches suprabasales de l'épiderme (qui va être éliminé par desquamation¹⁴) n'aura pas la même importance qu'un dégât au niveau de la couche basale qui, elle, contient les kératinocytes prolifératifs, les cellules souches, les mélanocytes. Cependant, même les peaux mates (celles qui sont moins propices au développement de coups de soleil) ne sont pas immunes aux dégâts créés par les UV – c'est le cas de certains individus d'origine caucasienne, mais également asiatique, d'Amérique Latine ou certaines personnes africaines.

Parce que la couche basale de l'épiderme contient également les mélanocytes et que des dégâts à l'ADN de ces cellules peuvent être à l'origine du développement de désordres pigmentaires (taches d'hyper- ou d'hypopigmentation) ou, beaucoup plus grave, du mélanome malin, on a mené une étude

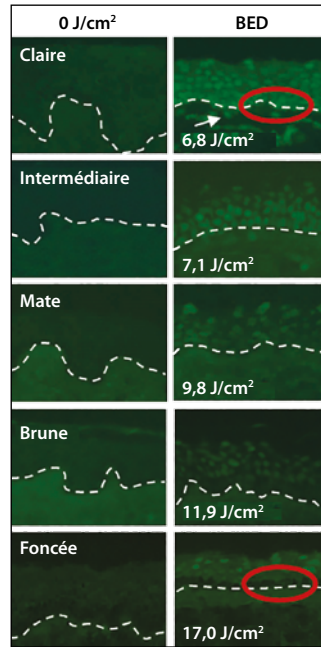


Figure 15

Comparaison des dégâts à l'ADN après exposition UV en fonction du type de peau.

Source : Del Bino et coll. (2006). *Pigment. Cell. Res.*, 19(6) : 606-14.

en ciblant les dimères spécifiquement accumulés dans les mélanocytes. Pour cela, on a réalisé un double marquage CPD-TRP1, TRP1 étant une enzyme clé de la mélanogenèse qui permet de marquer les mélanocytes en rouge. Tous les mélanocytes étaient ainsi marqués en rouge et ceux qui avaient accumulé des dégâts au sein de leur ADN (« CPD positifs ») étaient double-marqués rouge et vert (Figure 16).

Sur une quarantaine de prélèvements, on a mis en évidence une accumulation de mélanocytes « CPD positifs » sur peaux claires, intermédiaires et mates alors que dans les peaux brunes et foncées, les mélanocytes étaient majoritairement « CPD négatifs » donc épargnés. À la BED, dans les peaux claires on a plus de

14. Desquamation : perte de la couche superficielle de l'épiderme, le stratum corneum, sous formes d'amas cornéocytaires visibles appelés « squames ».

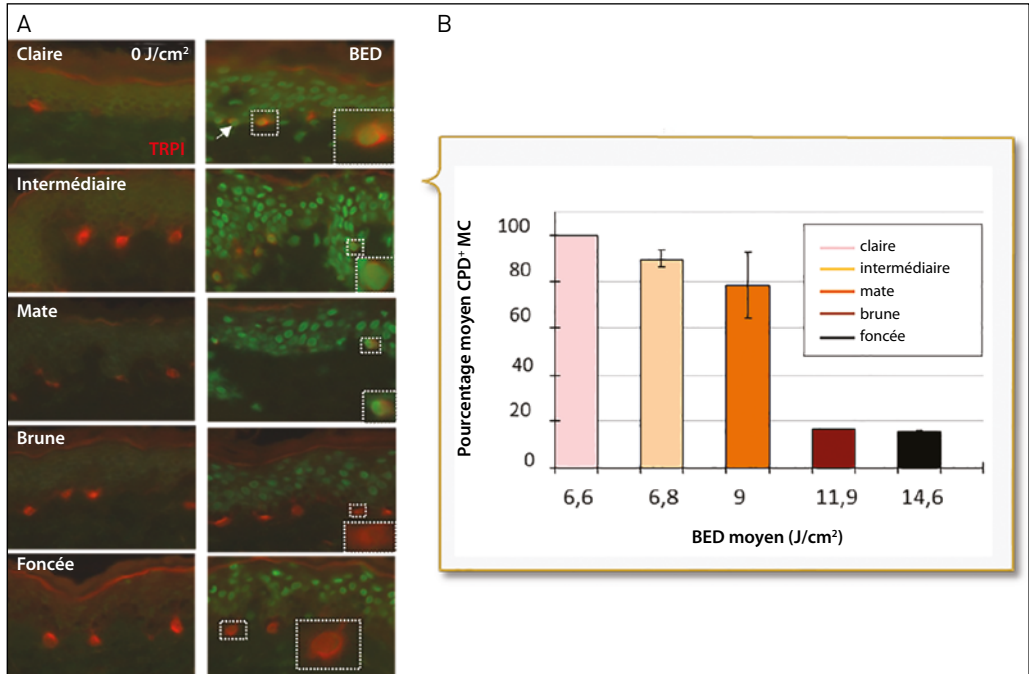


Figure 16

A) Accumulation des CPD dans les mélanocytes après exposition UV.

B) Quantification des mélanocytes CPD positifs à la BED.

Source : Del Bino S., Sok J., Bernerd F. (2013). *British J. Dermatol.*, 168 (5) : 1120-3.

80 % de mélanocytes marqués, alors que dans les peaux brunes et foncées on en a moins de 20 %. Les doses érythémales équivalentes (la BED) n'impliquent pas les mêmes dégâts en fonction de la pigmentation constitutive.

En résumé, l'ITA permet de caractériser la couleur de peau et d'être prédictif des effets biologiques des UV, qui sont « doses-dépendants » et également « dépendants de la couleur de la peau ». Elle a donc un pouvoir prédictif des effets cliniques à court et long terme en termes de susceptibilité au photovieillissement, aux désordres pigmentaires et aux photocancers.

2.2. Analyse des mélanines

Afin d'étudier la différence de sensibilité entre d'un côté les peaux claires à mates, et de l'autre, les peaux brunes à foncées, on a étudié leurs contenus en mélanine par une analyse quantitative et qualitative sur une collection de trente-cinq prélèvements de peaux, chacun d'ITA connus.

On a fait trois types d'analyses : de l'analyse d'images sur des coupes de peaux colorées par la méthode de Fontana-Masson, une coloration spécifique de la mélanine, de la spectrophotométrie après solubilisation des échantillons au Soluène-350 (en collaboration avec le Professeur Ito, Fujita Health University,

Tokyo, Japon) et de l'HPLC¹⁵ après dégradation chimique des échantillons (oxydation ou hydrolyse de la mélanine pour

aboutir aux composés PTCA, TTCA, 4-AHP, également en collaboration avec le Pr. Ito, **Figure 17**).

15. HPLC : Chromatographie en phase liquide à haute performance. Technique d'analyse, de séparation et d'identification de molécules basée sur des différences d'interaction entre une phase mobile, une phase stationnaire et le soluté.

Des coupes de peaux colorées au Fontana-Masson sont représentées sur la **Figure 18**. On calcule un « index mélanique », qui correspond à la surface couverte par le marquage mélanique

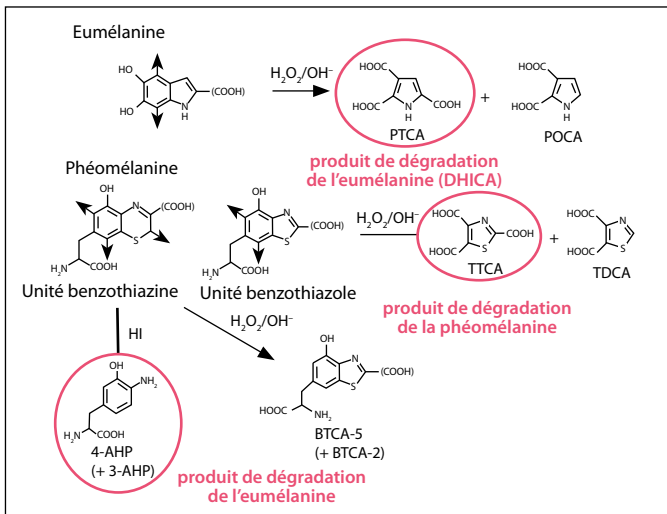


Figure 17

Obtention des produits de dégradation de l'eumélanine et de la phéomélanine après oxydation ou hydrolyse.
Source : Ito et coll. (2011).

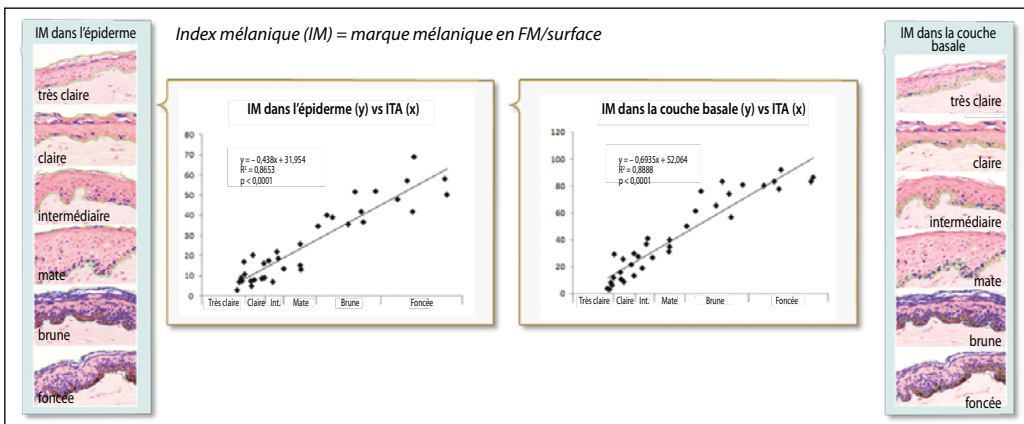


Figure 18

Corrélation entre l'ITA et la quantité de mélanine obtenue par le calcul de l'index mélanique dans la couche basale et dans l'épiderme.

Source : Del Bino S., Ito S., Sok J., Nakanishi Y., Bastien P., Wakamatsu K. and Bernard F. (2015). *Pigment Cell Melanoma Res.*, 28(6) : 707-17.

rapportée à la surface totale. Lorsqu'on regarde la mélanine dans tout l'épiderme y compris la couche cornée, on constate une bonne corrélation entre la couleur de la peau définie par l'ITA et la quantité de mélanine présente dans l'épiderme. Sur la mélanine présente au niveau de la couche basale aussi, la corrélation entre l'index mélanique et la couleur de la peau est bonne.

Les mesures de la mélanine totale par spectrophotométrie ou par HPLC confirment une bonne corrélation avec la couleur de la peau (Figure 19).

Pour caractériser la nature des mélanines des échantillons de peau, on a évalué le contenu en eumélanine en mesurant la PTCA, qui est un produit de dégradation de la DHICA eumélanine, et montré qu'il y avait une très bonne corrélation entre l'ITA et la PTCA (l'eumélanine) (Figure 20A). Pour la phéomélanine, nous avons mesuré deux composants différents : le 4-AHP, qui permet d'évaluer la quantité de phéomélanine de type benzothiazine – à ce niveau on n'a pas trouvé de corrélation (Figure 20B) –, c'est le marqueur utilisé classiquement.

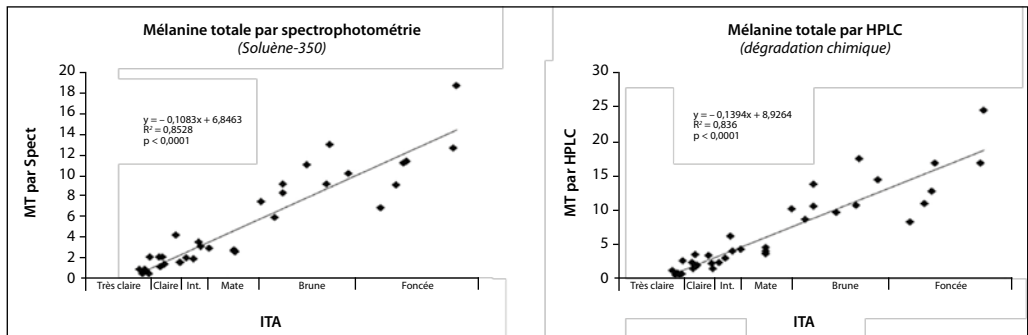


Figure 19

Corrélation entre la couleur de la peau et la mélanine totale déterminée par HPLC ou par spectrophotométrie.

Source : Del Bino S., Ito S., Sok J., Nakanishi Y., Bastien P., Wakamatsu K. and Bernerd F. (2015). *Pigment Cell. Melanoma Res.*, 28(6) : 707-17.

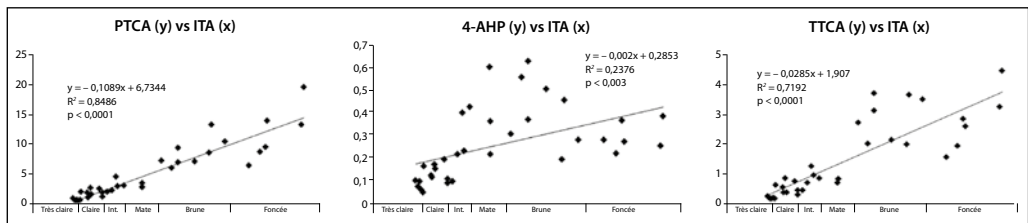


Figure 20

Corrélation entre la couleur de peau et la quantité d'eumélanine (PTCA) et de phéomélanine (4-AHP ou TTCA).

Source : Del Bino S., Ito S., Sok J., Nakanishi Y., Bastien P., Wakamatsu K. and Bernerd F. (2015). *Pigment Cell Melanoma Res.*, 28(6) : 707-17.

Grâce à l'amélioration des méthodologies chimiques, on a également pu mesurer le TTCA, un produit de dégradation de la phéomélanine de type benzothiazol. Ici, on a pu montrer une très bonne corrélation (Figure 20C).

Sur la Figure 21 sont reprises les contributions de l'eumélanine et de la phéomélanine (mesurée par les deux marqueurs cités ci-dessus) en fonction de la pigmentation constitutive. On observe que la mélanine totale ainsi que l'eumélanine et un type de phéomélanine augmentent avec la pigmentation constitutive. L'épiderme humain,

quelle que soit sa pigmentation constitutive, est composé à ~ 75 % d'eumélanine (la mélanine photoprotectrice) et à ~ 25 % de phéomélanine, avec évidemment de grandes différences d'échelles entre peau claire et peau foncée, représentatives des quantités respectives.

Sur la Figure 22, on a représenté les descripteurs de la mélanine issus de l'analyse d'images, de la spectrophotométrie ou de la HPLC en fonction de la pigmentation constitutive. En rouge, les descripteurs qui ont un niveau élevé, en bleu ceux

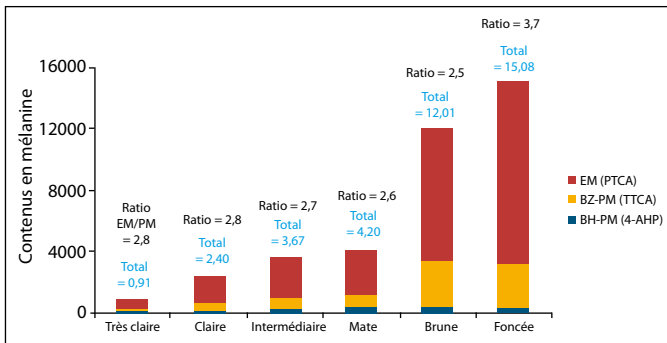


Figure 21

Récapitulatif du contenu en eumélanine et en phéomélanine pour chaque type de peau.

Source : Del Bino S., Ito S., Sok J., Nakanishi Y., Bastien P., Wakamatsu K. and Bernerd F. (2015). *Pigment Cell Melanoma Res.*, 28(6) : 707-17.

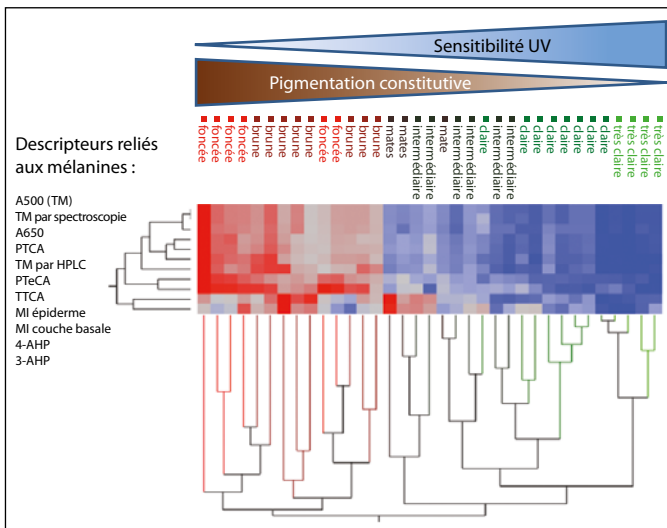


Figure 22

Représentation des différents descripteurs des mélanines en fonction de la couleur de la peau.

Source : Del Bino S., Ito S., Sok J., Nakanishi Y., Bastien P., Wakamatsu K. and Bernerd F. (2015). *Pigment Cell Melanoma Res.*, 28(6) : 707-17.

qui ont un niveau faible. On observe que se délimitent deux groupes : d'un côté, les peaux très claires à mates et de l'autre côté, les peaux brunes à foncées, ce qui correspond exactement aux groupes de sensibilité érythémale aux UV (simulation solaire, riche en UVB) décrits plus haut.

3 Les peaux reconstruites pigmentées développées au laboratoire

3.1. Les modèles de peaux reconstruites comportant trois types cellulaires

Afin de modéliser les peaux du monde, on développe des

RECETTE POUR FABRIQUER UNE PEAU DE SYNTHÈSE

À partir d'un prélèvement de peau, on isole les trois types cellulaires, on les amplifie. On démarre la reconstruction avec un mélange de fibroblastes et de collagène. Pendant trois jours, les fibroblastes vont contracter le collagène pour former ce qu'on appelle un équivalent dermique ou lattice (*Figure 23*). À l'aide d'un anneau métallique, onensemence sur la lattice un mélange de kératinocytes et de mélanocytes. On laisse pendant une semaine en condition submergée par le milieu de culture pour permettre aux kératinocytes de proliférer, recouvrir le support et donc reconstituer la couche basale (*Figure 23*).

Les peaux sont ensuite montées sur une grille métallique pour permettre le contact avec l'air : c'est la phase dite d'émergence qui va permettre la différenciation terminale. Toutes les couches de l'épiderme jusqu'à la couche cornée sont ainsi reconstituées.

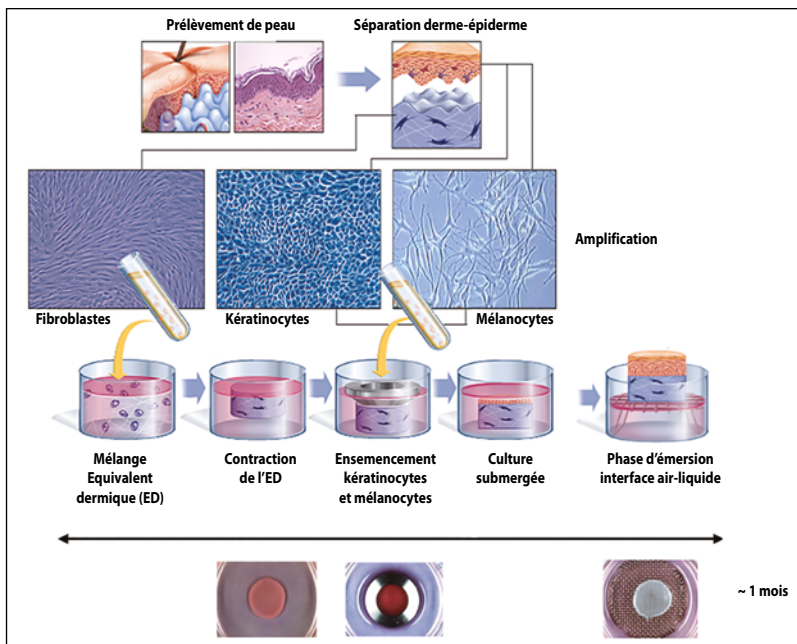


Figure 23

Schéma de fabrication d'une peau reconstruite pigmentée selon le modèle de Duval et coll. (2012) *Tissue Eng.*
Source : L'Oréal R&I.

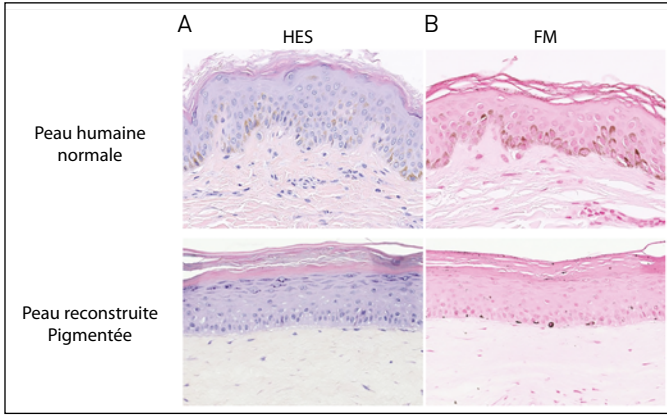


Figure 24

Comparaison entre une peau reconstruite pigmentée obtenue in vitro et une peau humaine normale. A) Coloration HES ; B) coloration Fontana Masson.

Source : L'Oréal.

peaux reconstruites pigmentées avec les trois types cellulaires : pour l'épiderme, le kératinocyte et le mélanocyte, et pour le derme, le fibroblaste (**Encart : « Recette pour fabriquer une peau de synthèse »**).

La **Figure 24** montre une coupe de peau reconstruite pigmentée et une coupe de peau normale. À gauche la coloration HES (hématoxyline, éosine, safran) permet de mettre en évidence en violet foncé les noyaux, en violet clair les cytoplasmes et en beige les fibres de collagène. On reconnaît la couche basale avec les kératinocytes (il y a aussi les mélanocytes non mis en évidence avec cette coloration), et toutes les couches suprabasales jusqu'à la couche cornée, ainsi que le derme avec les fibroblastes. À droite la coloration de Fontana Masson permet de mettre en évidence les pigments de mélanine en noir.

La **Figure 25** illustre que la peau reconstruite pigmentée est fonctionnelle. On retrouve bien les trois types cellulaires : au niveau de l'épiderme, on a les kératinocytes en rouge, les mélanocytes en vert et au niveau

du derme les fibroblastes en rouge. Les mélanocytes sont bien au niveau de la couche basale, ils sont fonctionnels, capables de produire du pigment et de le transférer au kératinocyte avoisinant. Les peaux reconstruites expriment les marqueurs de la mélanogénèse avec deux enzymes impliquées dans la synthèse mélanique, TRP1 et tyrosinase, et les expriment de la même façon qu'une peau humaine normale.

3.2. Vers des peaux reconstruites de pigmentation variable

On sait produire en laboratoire des peaux reconstruites ayant les pigmentations diverses que l'on peut souhaiter. On fait pour cela

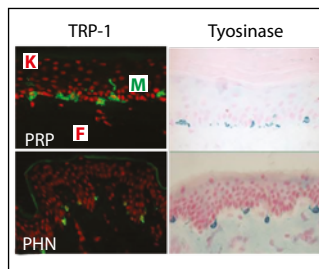


Figure 25

Expression de marqueurs de la mélanogénèse dans une peau reconstruite pigmentée (PRP) et dans une peau humaine normale (PHN). Visualisation des trois types cellulaires dans le modèle de peau reconstruite pigmentée (M = mélanocyte, K = kératinocyte ; F = fibroblaste).

Source : L'Oréal.

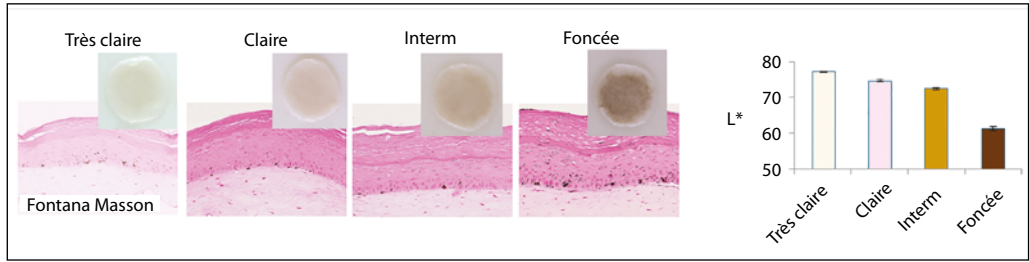


Figure 26

Obtention de peaux reconstituées de pigmentation variable en modifiant le phénotype des donneurs de mélanocytes.

Source : L'Oréal.

varier le phénotype du mélanocyte que l'on intègre à la peau reconstruite. Des mélanocytes issus de donneurs à peaux claires donnent une peau reconstruite pigmentée claire (plus le L^* le niveau de gris est élevé, plus la peau est claire) ; un mélanocyte issu d'un donneur qui a une pigmentation intermédiaire

donne une peau reconstituée un peu plus pigmentée, et un mélanocyte foncé, une pigmentation importante (Figure 26).

Ces peaux sont très utiles au laboratoire, permettant de reproduire les différentes pigmentations des peaux du monde et d'étudier leur réponse aux UV.

Vers une meilleure connaissance et protection des peaux du monde

Les études scientifiques récentes confirment la corrélation entre la pigmentation constitutive, la couleur naturelle de la peau, et la sensibilité aux UV solaires, et permettent de montrer que les groupes de peau très claires à mates ont un faible contenu en mélanine totale et en eumélanine photoprotectrice, alors qu'ils sont fortement impactés par l'exposition UV.

On a vu la formation des dimères de pyrimidine (CPD) dans les kératinocytes, les mélanocytes et les fibroblastes dans ces groupes de couleurs de peau, ce qui permettrait d'expliquer leur plus grande sensibilité en

termes de photovieillissement, de développement des désordres pigmentaires ou de photocancers, dans des conditions érythémales d'exposition.

Ce travail permet également de souligner le faible contenu en mélanine totale et en eumélanine des peaux mates, qui sont moins propices au développement de coups de soleil, et qui sont présentes dans la population caucasienne mais également asiatique, hispanique, afro-américaine ou africaine.

La définition précise de la couleur de la peau associée à une meilleure caractérisation du phénotype « chimique » mélanique permet de mieux innover et proposer une photoprotection adaptée à tous les types de peau de par le monde.