

Modulation de l'apoptose radioinduite par Ac-DEVD-CHO, un inhibiteur de protéases « ice-like »

D. Weltin¹, V. Holl¹, J.W. Hyun¹, J. Marchal^{1,2}, G.M. Jung³,
P. Dufour¹ et P. Bischoff^{1,*}

¹ Laboratoire de Cancérologie Expérimentale et de Radiobiologie (LCER),
Institut d'Hématologie et d'Immunologie, 1 place de l'Hôpital, 67091 Strasbourg, France

² Institut Charles Sadron, 6 rue Boussingault, 67083 Strasbourg, France

³ Centre Paul Strauss, place de l'Hôpital, 67091 Strasbourg, France

* Correspondance et tirés à part.

RÉSUMÉ

Les protéases « ICE-like » ou caspases, sont les homologues humaines du produit du gène *ced-3* du ver *Caenorhabditis elegans* et sont activées lors des étapes précoces de l'apoptose. L'objectif de ce travail vise à déterminer dans quelle mesure l'inhibition de l'une d'entre elles, la caspase-3 est susceptible de modifier la sensibilité des cellules vis-à-vis de l'apoptose radioinduite. Des lymphocytes spléniques murins irradiés en présence de Ac-DVED-CHO un inhibiteur spécifique de la caspase-3 présentent un taux de particules hypodiploïdes radioinduites bien inférieur à celui des contrôles et une diminution drastique de la fragmentation internucléosomale de l'ADN. Toutefois, ni l'externalisation des phospholipides anioniques, autre marqueur spécifique de l'apoptose, ni la viabilité ne sont affectées.

Mots clés : apoptose, radiations ionisantes, caspases.

ABSTRACT

The "ICE-like" proteases, recently renamed caspases, are the human homologues of the *Caenorhabditis elegans* *ced-3* gene product and are activated in the early steps of apoptosis. The aim of this work is to determine whether the inhibition of one of these proteases, namely caspase-3, is able to modify the cell sensitivity toward radiation-induced apoptosis. Murine spleen lymphocytes submitted to γ -radiations in presence of Ac-DVED-CHO, a caspase-3 specific inhibitor, exhibit a sharply reduced number of radiation-induced hypodiploid particules as compared to the controls and an almost total inhibition of the internucleosomal DNA fragmentation. However, both the anionic phospholipids externalisation, another specific hallmark of apoptosis, and the viability remain unchanged.

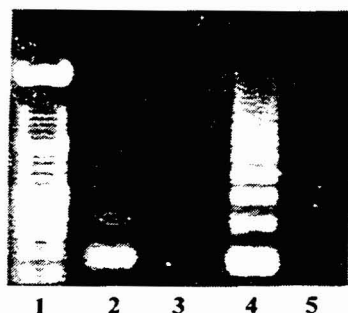
Key words: apoptosis, ionizing radiation, caspases.

RESULTAT

Des lymphocytes spléniques de souris C3H sont irradiés à 2 Gy en présence ou en l'absence d'un térapeptide (Ac-DVED-CHO) inhibiteur spécifique de la Caspase-3. 12 heures après l'irradiation, la survenue de l'apoptose spontanée et radioinduite est suivie par l'analyse de trois critères : (i) la formation de particules hypodiploïdes par cytométrie en flux des cellules perméabilisées et marquées à l'iodure de propidium (Tableau 1) ; (ii) La fragmentation internucléosomale de l'ADN par électrophorèse sur gel d'agarose (Figure 1) et (iii) l'externalisation des phospholipides anioniques (PLA) par cytométrie en flux des cellules marquées à l'annexine V (Tableau 1). Enfin, la viabilité métabolique cellulaire a été déterminée par le test d'exclusion du Bleu Trypan (Tabl. 1).

Tableau 1 :

	Particules hypodiploïdes (%)		Externalisation des PLA (%)		Viabilité métabolique (%)	
	NI	2 Gy	NI	2 Gy	NI	2 Gy
Contrôles	15	45	24	44	100	14
Ac-DVED-CHO	5	12	23	42	93	21



- 1 : Marqueurs de poids moléculaire
- 2 : Contrôle
- 3 : Ac-DEVD-CHO 300 µM
- 4 : 2 Gy, contrôle
- 5 : 2 Gy, Ac-DEVD-CHO 300 µM

Figure 1 : Fragmentation de l'ADN

L'addition de Ac-DVED-CHO diminue considérablement la proportion des particules hypodiploïdes tant chez les cellules non irradiées (NI) que chez les cellules irradiées (2 Gy). Par contre, elle n'a aucun effet sur l'externalisation des phospholipides anioniques. Par ailleurs, ce térapeptide inhibe presque totalement la fragmentation internucléosomale de l'ADN alors que son impact sur la viabilité est beaucoup plus limité. L'ensemble de ces données indique que la caspase-3 jouerait un rôle d'exécuteur plutôt que de régulateur dans le déroulement des processus apoptotiques.

Remerciements - Ces travaux sont soutenus par la DRET (6061) et le Comité Radioprotection d'EDF.