

Papel de la fosfolipasa A₂ independiente de calcio de grupo VIA en liberación de ácido araquidónico, incorporación de ácidos grasos en fosfolípidos y apoptosis en células U937 respondiendo a peróxido de hidrógeno

Jesús Balsinde, et al.

*Instituto de Biología y Genética Molecular, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC),
Universidad de Valladolid, 47003 Valladolid, Spain*

July 13, 2004

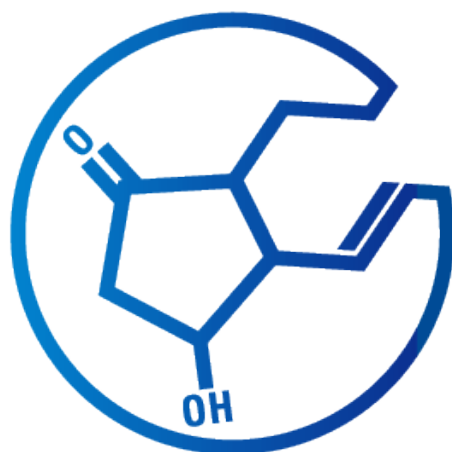
La fosfolipasa A₂ independiente de calcio de grupo VIA ha mostrado desempeñar un papel importante en la regulación de reacciones basales de desacilación de fosfolípidos en ciertos tipos celulares. Más recientemente, se han sugerido también papeles para esta enzima en la destrucción de fosfolípidos de membrana durante la apoptosis y daño oxidativo. Los roles propuestos para la iPLA₂ se han basadi fuertemente en el uso de bromoenol lactona, inhibidor no específico de iPLA₂, que afecta a otras enzimas y rutas lipídicas ajenas a la iPLA₂, que hace difícil definir la contribución real de la iPLA₂ en funciones específicas. En trabajo previo se utilizó tecnología antisentido para disminuir la actividad iPLA₂ celular como una alternativa válida al estudio de las funciones de la iPLA₂. En el presente estudio, se ha seguido la estrategia opuesta y se han preparado células U937 sobreexpresando la actividad iPLA₂ mejorada por transfección con un plásmido que contiene el cDNA de iPLA₂. En comparación con células control, las células sobreexpresando la enzima mostraron respuestas elevadas a peróxido de hidrógeno con respecto a movilización de ácido araquidónico e incorporación de ácidos grasos a fosfolípidos, proporcionando evidencia adicional del papel clave que la iPLA₂ juega en estos eventos. La exposición de las células a peróxido de hidrógeno por períodos largos de tiempo resultaron en muerte celular por apoptosis, proceso que se vio acelerado en las células sobreexpresando iPLA₂. También se observó una mayor hidrólisis de fosfolípidos así como liberación de ácidos grasos. Inesperadamente, la abrogación de la actividad iPLA₂ tantp por el uso de inhibidores químicos como por antisentido no retrasó ni disminuyó la apoptosis inducida por el peróxido de hidrógeno. Estos resultados indican que aunque la hidrólisis de fosfolípidos por iPLA₂ ocurre durante la apoptosis, este proceso no es imprescindible. Así, más allá de un mero papel destructor, la iPLA₂ puede estar implicada en papeles más específicos durante la apoptosis.

Financiación: Ministerio de Ciencia y Tecnología (BMC2001-2244)
Junta de Castilla y León, Consejería de Educación (CSI-4/02)
Fundació La Marató de TV3 (011232)

REFERENCES

1. Balsinde, J., M. V. Winstead, and E. A. Dennis. 2002. Phospholipase A₂ regulation of arachidonic acid mobilization. *FEBS Lett.* 531: 2–6.
2. Balsinde, J., M. A. Balboa, P. A. Insel, and E. A. Dennis. 1999. Regulation and inhibition of phospholipase A₂. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 39: 175–189.

3. Balsinde, J., and E. A. Dennis. 1997. Function and inhibition of intracellular calcium-independent phospholipase A₂. *J. Biol. Chem.* 272: 16069–16072.
4. Winstead, M. V., J. Balsinde, and E. A. Dennis. 2000. Calcium-independent phospholipase A₂: structure and function. *Biochim. Biophys. Acta* 1488: 28–39.
5. Balsinde, J., I. D. Bianco, E. J. Ackermann, K. Conde-Frieboes, and E. A. Dennis. 1995. Inhibition of calcium-independent phospholipase A₂ prevents arachidonic acid incorporation and phospholipid remodeling in P388D₁ macrophages. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 92: 8527–8531.
6. Balsinde, J., M. A. Balboa, and E. A. Dennis. 1997. Antisense inhibition of group VI Ca²⁺-independent phospholipase A₂ blocks phospholipid fatty acid remodeling in murine P388D₁ macrophages. *J. Biol. Chem.* 272: 29317–29321.
7. Balsinde, J. 2002. Roles of various phospholipases A₂ in providing lysophospholipid acceptors for fatty acid phospholipid incorporation and remodelling. *Biochem. J.* 364: 695–702.
8. Balboa, M. A., and J. Balsinde. 2002. Involvement of calcium-independent phospholipase A₂ in hydrogen peroxide-induced accumulation of free fatty acids in human U937 cells. *J. Biol. Chem.* 277: 40384–40389.
9. Fuentes, L., R. Pérez, M. L. Nieto, J. Balsinde, and M. A. Balboa. 2003. Bromoenol lactone promotes cell death by a mechanism involving phosphatidate phosphohydrolase-1 rather than calcium-independent phospholipase A₂. *J. Biol. Chem.* 278: 44683–44690.
10. Balboa, M. A., Y. Sáez, and J. Balsinde. 2003. Calcium-independent phospholipase A₂ is required for lysozyme secretion in U937 promonocytes. *J. Immunol.* 170: 5276–5280.
11. Balboa, M. A., R. Pérez, and J. Balsinde. 2003. Amplification mechanisms of inflammation: paracrine stimulation of arachidonic acid mobilization by secreted phospholipase A₂ is regulated by cytosolic phospholipase A₂-derived hydroperoxyeicosatetraenoic acid. *J. Immunol.* 171: 989–994.
12. Balboa, M. A., J. Balsinde, S. S. Jones, and E. A. Dennis. 1997. Identity between the Ca²⁺-independent phospholipase A₂ enzymes from P388D₁ macrophages and Chinese hamster ovary cells. *J. Biol. Chem.* 272: 8576–8580.
13. Balsinde, J., and E. A. Dennis. 1996. Distinct roles in signal transduction for each of the phospholipase A₂ enzymes present in P388D₁ macrophages. *J. Biol. Chem.* 271: 6758–6765.
14. Balsinde, J., M. A. Balboa, P. A. Insel, and E. A. Dennis. 1997. Differential regulation of phospholipase D and phospholipase A₂ by protein kinase C in P388D₁ macrophages. *Biochem. J.* 321: 805–809.
15. Balsinde, J., and E. A. Dennis. 1996. Bromoenol lactone inhibits magnesium-dependent phosphatidate phosphohydrolase and blocks triacylglycerol biosynthesis in mouse P388D₁ macrophages. *J. Biol. Chem.* 271: 31937–31941.
16. Balsinde, J., B. Fernández, and E. Diez. 1990. Regulation of arachidonic acid release in mouse peritoneal macrophages. The role of extracellular calcium and protein kinase C. *J. Immunol.* 144: 4298–4304.
17. Balsinde, J., B. Fernández, J. A. Solís-Herruzo, and E. Diez. 1992. Pathways for arachidonic acid mobilization in zymosan-stimulated mouse peritoneal macrophages. *Biochim. Biophys. Acta* 1136: 75–82.
18. Balsinde, J., B. Fernández, and J. A. Solís-Herruzo. 1994. Increased incorporation of arachidonic acid into phospholipids in zymosan-stimulated mouse peritoneal macrophages. *Eur. J. Biochem.* 221: 1013–1018.
19. Balsinde, J., B. Fernández, and J. A. Solís-Herruzo. 1994. Ethanol inhibits zymosan-stimulated eicosanoid production in mouse peritoneal macrophages. *Biochim. Biophys. Acta* 1210: 195–201.
20. Balsinde, J., and E. A. Dennis. 1996. The incorporation of arachidonic acid into triacylglycerol in P388D₁ macrophage-like cells. *Eur. J. Biochem.* 235: 480–485.



**THE EICOSANOID
RESEARCH DIVISION**
VALLADOLID