

Liberación de ácido araquidónico a partir de diacilglicerol en neutrófilos humanos

Jesús Balsinde, et al.

Centro de Investigaciones Biológicas, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Velázquez 144, E-28006, Madrid, Spain

August 25, 1991

Se ha estudiado la capacidad de los neutrófilos humanos para liberar ácido araquidónico del diacilglicerol, empleando 1-estearoil-2-[1-¹⁴C]araquidonoil-sn-glicerol y 1-[1-¹⁴C]estearoil-2-araquidonoil-sn-glicerol como sustratos exógenos. Hemos observado que el ácido araquidónico se elimina del diacilglicerol mediante la acción secuencial de dos enzimas. Primero, la posición sn-1 se separa por la actividad de la 1-diacilglicerol lipasa, y luego, el ácido araquidónico se libera del 2-monoacilglicerol resultante mediante una 2-monoacilglicerol lipasa. La actividad específica de la 2-monoacilglicerol lipasa, utilizando 2-[1-¹⁴C]araquidonoil-sn-glicerol como sustrato exógeno, fue al menos 9 veces mayor que la de la 1-diacilglicerol lipasa, lo que indica que la acción de la 1-diacilglicerol lipasa es el paso limitante de la velocidad en la liberación de ácido araquidónico a partir del diacilglicerol. Los sobrenadantes posnucleares de células tratadas con A23187 mostraron un aumento de 2,5 veces en ambas actividades de lipasa. El sistema de diacilglicerol lipasa liberador de ácido araquidónico mostró un pH óptimo de 4,5 y no fue inhibido por EGTA ni estimulado por Ca²⁺, Mg²⁺, Mn²⁺, Zn²⁺ o Co²⁺. Sin embargo, la liberación de ácido araquidónico fue inhibida por Hg²⁺, lo que sugiere la participación de grupos sulfhidrilo en la actividad catalítica. Se examinó también la distribución subcelular de las actividades de la 1-diacilglicerol lipasa y la 2-monoacilglicerol lipasa en neutrófilos humanos en reposo y tratados con A23187 mediante el fraccionamiento de sobrenadantes posnucleares en gradientes continuos de sacarosa. Ambas lipasas se localizaron principalmente en la membrana de los gránulos que contenían gelatinasa, los cuales se separaron del citosol, la membrana plasmática, los fofasomas y los gránulos específicos y azurófilos.

Financiación: Dirección General de Investigación Científica y Técnica (DGICYT PM89-0003).

REFERENCES

1. Needleman, P., Turk, J., Jakschik, B. A., Morrison, A. R., and Lefkowitz, J. B. (1986) *Annu. Rev. Biochem.* 55, 69-102
2. Takenawa, T., Homma, Y., and Nagai, Y. (1983) *J. Immunol.* 130, 2849-2855
3. Walsh, C. E., DeChatelet, L. R., Chilton, F. H., Wykle, R. L., and Waite, M. (1983) *Biochim. Biophys. Acta* 750, 32-40
4. Emilsson, A., and Sundler, R. (1986) *Biochim. Biophys. Acta* 876, 533-542
5. Meade, C. J., Turner, G. A., and Bateman, P. E. (1986) *Biochem. J.* 238, 425-436
6. Diez, E., Balsinde, J., Aracil, M., and Schuller, A. (1987) *Biochim. Biophys. Acta* 921, 82-89
7. Tao, W., Molski, T. F. P., and Sha'afi, R. I. (1989) *Biochem. J.* 257, 633-637
8. Nakashima, S., Suganuma, A., Sato, M., Tohmatsu, T., and Nozawa, Y. (1989) *J. Immunol.* 143, 1295-1302
9. Balsinde, J., Fernandez, B., and Diez, E. (1990) *J. Immunol.* 144, 4298-4304
10. Majerus, P. W., Connolly, T. M., and Wilson, D. B. (1984) *Cell* 37, 701-703
11. Cockcroft, S., Baldwin, J. M., and Allan, D. (1984) *Biochem. J.* 221, 477-482

12. Honeycutt, P. J., and Niedel, J. E. (1986) *J. Biol. Chem.* 261, 15900-15905
13. Cockcroft, S. (1986) *Biochem. J.* 240, 503-507
14. Preiss, J. E., Bell, R. M., and Niedel, J. E. (1987) *J. Immunol.* 138, 1542-1454
15. Rider, L. G., and Niedel, J. E. (1987) *J. Biol. Chem.* 262, 5603-5608
16. Korchak, H. M., Vosshall, L. B., Zagon, G., Ljubich, P., Rich, A. M., and Weissmann, G. (1988) *J. Biol. Chem.* 263, 11090- 11097
17. Rider, L. G., Dougherty, R. W., and Niedel, J. E. (1988) *J. Immunol.* 140, 200-207
18. Reibman, J., Korchak, H. M., Vosshall, L. B., Haines, K. A., Rich, A. M., and Weissmann, G. (1988) *J. Biol. Chem.* 263, 6322-6328
19. Tyagi, S. R., Tamura, M., Burnham, D. N., and Lambeth, J. D. (1988) *J. Biol. Chem.* 263, 13191-13198
20. Agwu, D. E., McPhail, L. C., Chabot, M. C., Daniel, L. W., Wykle, R. L., and McCall, C. E. (1989) *J. Biol. Chem.* 264, 1405-1413
21. Billah, M. M., Eckel, S., Mullmann, T. J., Egan, R. W., and Siegel, M. I. (1989) *J. Biol. Chem.* 264, 17069-17077
22. Gelas, P., Ribbes, G., Record, M., Terce, F., and Chap, H. (1989) *FEBS Lett.* 251, 213-218
23. Truett, A. P., Snyderman, R., and Murray, J. J. (1989) *Biochem. J.* 260, 909-913
24. Mullmann, T. J., Siegel, M. I., Egan, R. W., and Billah, M. M. (1990) *J. Immunol.* 144, 1901-1908
25. Balsinde, J., Diez, E., Schuller, A., and Mollinedo, F. (1988) *J. Biol. Chem.* 263, 1929-1936
26. Mollinedo, F., and Schneider, D. L. (1984) *J. Biol. Chem.* 259, 7143-7150
27. Belfrage, P., and Vaughan, M. (1969) *J. Lipid Res.* 10, 341-344
28. Balsinde, J., Diez, E., and Mollinedo, F. (1988) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 154, 502-508
29. Balsinde, J., and Mollinedo, F. (1990) *FEBS Lett.* 259, 237-240
30. Prescott, S. M., and Majerus, P. W. (1983) *J. Biol. Chem.* 258, 764-769
31. Mauco, G., Fauvel, J., Chap, H., and Douste-Blazy, L. (1984) *Biochim. Biophys. Acta* 796, 169-177
32. Chau, L. Y., and Tai, H. H. (1988) *Biochim. Biophys. Acta* 963, 436-444
33. Hee-Cheong, M., Fletcher, T., Kryski, S. K., and Severson, D. L. (1985) *Biochim. Biophys. Acta* 833, 59-68
34. Rindlisbacher, B., Reist, M., and Zahler, P. (1987) *Biochim. Biophys. Acta* 905, 349-357
35. Okazaki, T., Sagawa, N., Okita, J. R., Bleasdale, J. E., MacDonald, P. C., and Johnston, J. M. (1981) *J. Biol. Chem.* 256, 7316-7321
36. Balsinde, J., Diez, E., Fernandez, B., and Mollinedo, F. (1989) *Eur. J. Biochem.* 186, 717-724
37. Smith, G. P., Sharp, G., and Peters, T. J. (1985) *J. Cell. Sci.* 76, 167-178
38. Borregaard, N., Christensen, L., Bjerrum, O. W., Birgens, H. S., and Clemmensen, I. (1990) *J. Clin. Invest.* 85, 408-416
39. Mollinedo, F., Manara, F. S., and Schneider, D. L. (1986) *J. Biol. Chem.* 261, 1077-1082
40. Mollinedo, F. (1986) *Biochim. Biophys. Acta* 861, 33-43
41. Mollinedo, F., and Schneider, D. L. (1987) *FEBS Lett.* 217, 158- 162
42. Balsinde, J., and Mollinedo, F. (1990) *Biochim. Biophys. Acta* 1052, 90-95
43. Daniel, L. W., Small, G. W., and Schmitt, J. D. (1988) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 151, 291-297
44. Bell, R. L., Kennerly, D. A., Stanford, N., and Majerus, P. W. (1979) *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 76, 3238-3241
45. Sagawa, N., Okazaki, T., MacDonald, P. C., and Johnston, J. M. (1982) *J. Biol. Chem.* 257, 8158-8162
46. Chau, L. Y., and Tai, H. H. (1981) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 100, 1688-1695
47. Hibbs, M. S., and Bainton, D. F. (1989) *J. Clin. Invest.* 84, 1395-1402
48. Fernandez, B., and Balsinde, J. (1990) *FEBS Lett.* 268, 107-109
49. Balsinde, J., and Mollinedo, F. (1988) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 151, 802-808
50. Diez, E., Balsinde, J., and Mollinedo, F. (1990) *Biochim. Biophys. Acta* 1047, 83-89
51. Mahadevappa, V. G., and Holub, B. J. (1986) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 134, 1327-1333