

# Evidencia de la existencia de diferentes mecanismos de activación de fosfolipasa D en la línea celular promonocítica U937

Jesús Balsinde, et al.

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

October 5, 1991

Se ha investigado la activación de la fosfolipasa D por el factor activador de plaquetas (PAF) en la línea celular promonocítica humana U937. En células premarcadas con ácido [ $^3\text{H}$ ]palmítico, la adición de PAF o forbol 12-miristato 13-acetato (PMA) indujo la síntesis de [ $^3\text{H}$ ]fosfatidiletanol, lo que indica la activación de la fosfolipasa D. Cuando las células U937 se preincubaron durante 5 min con PMA y luego se estimularon con PAF, la formación de fosfatidiletanol aumentó considerablemente. Por el contrario, en las mismas condiciones experimentales, el tratamiento con PMA bloqueó completamente la formación de inositol fosfatos inducida por PAF en células premarcadas con [ $^3\text{H}$ ]inositol. Por lo tanto, el tratamiento con PMA demuestra que la activación de la fosfolipasa D puede ocurrir independientemente de la activación de la fosfolipasa C específica de fosfoinosítidos durante la estimulación con PAF en células U937. Por otra parte, los datos aquí presentados sugieren que la entrada de calcio externo es necesaria para la activación de la fosfolipasa D por el PAF, según se evalúa mediante la inhibición completa de la actividad enzimática mediante la quelación del calcio extracelular o mediante el tratamiento con verapamilo, un bloqueador de los canales de calcio. Sobre la base de estos hallazgos, se discute un modelo hipotético para la activación de la fosfolipasa D.

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

## REFERENCES

1. Majerus, P. W., Connolly, T. M., Deckmyn, H., Ross, T. S., Bross, T. E., Ishii, H., Bansal, V. S., and Wilson, D. B. (1986) *Science* 234, 1519-1526
2. Berridge, M. J. (1987) *Annu. Rev. Biochem.* 56, 159-193
3. Sandborg, R. R., and Smolen, J. E. (1988) *Lab. Invest.* 59, 300-320
4. Emilsson, A., and Sundler, R. (1984) *J. Biol. Chem.* 259, 3111-3116
5. Emilsson, A., and Sundler, R. (1985) *Biochim. Biophys. Acta* 876, 533-542
6. Burgoyne, R. D., Cheek, T. R., and O'Sullivan, A. J. (1987) *Trends Biochem. Sci.* 12, 332-333
7. Lister, M. D., Glaser, K. B., Ulevitch, R. J., and Dennis, E. A. (1989) *J. Biol. Chem.* 264, 8520-8528
8. Aderem, A. A., Rosen, A., and Barker, K. A. (1988) *Curr. Opin. Immunol.* 1, 56-62
9. Balsinde, J., Diez, E., Schuller, A., and Mollinedo, F. (1988) *J. Biol. Chem.* 263, 1929-1936
10. Bocckino, S. B., Blackmore, P. F., Wilson, P. B., and Exton, J. H. (1987) *J. Biol. Chem.* 262, 15309-15315
11. Pai, J. K., Siegel, M. I., Egan, R. W., and Billah, M. M. (1988) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 150, 355-366
12. Pai, J.-K., Siegel, M. I., Egan, R. W., and Billah, M. M. (1988) *J. Biol. Chem.* 263, 12472-12477
13. Cockcroft, S. (1984) *Biochim. Biophys. Acta* 795, 37-46
14. 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

15. Martin, T. W., and Michaelis, K. (1989) *J. Biol. Chem.* 264, 8847-8856
16. Exton, J. H. (1990) *J. Biol. Chem.* 256, 1-4
17. Moolenaar, W. H., Kruijer, W., Tilly, B. C., Verlaan, I., Bierman, A. J., and de Laat, S. W. (1986) *Nature* 323, 171-173
18. Yu, C. L., Tsai, M. H., and Stacey, D. W. (1988) *Cell* 52, 63-71
19. Bell, R. M. (1986) *Cell* 45, 631-632
20. Billah, M. M., Eckel, S., Mullmann, T. J., Egan, R. W., and Siegel, M. I. (1989) *J. Biol. Chem.* 264, 17069-17077
21. Mullmann, T. J., Siegel, M. I., Egan, R. W., and Billah, M. M. (1990) *J. Immunol.* 144, 1901-1908
22. Gruchalla, R. S., Dinh, T. T., and Kennerly, D. A. (1990) *J. Immunol.* 144, 2334-2342
23. Mullmann, T. J., Siegel, M. I., Egan, R. W., and Billah, M. M. (1990) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 170, 1197-1202
24. Valone, F. H. (1988) *J. Immunol.* 140, 2389-2394
25. Barzaghi, G., Sarau, H. M., and Mong, S. (1989) *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 248, 559-566
26. Barzaghi, G., and Mong, S. (1989) *Life Sci.* 44, 361-366
27. Garcia, M. C., Garcia, C., Gijon, M. A., Fernandez-Gallardo, S., Mollinedo, F., and Sanchez Crespo, M. (1991) *Biochem. J.* 273, 573-578
28. Braquet, P., Touqui, L., Shen, T. Y., and Vargaftig, B. B. (1987) *Pharmacol. Rev.* 39, 97-115
29. Maudsley, D. J., and Morris, A. G. (1987) *Immunology* 61, 189- 194
30. Casals-Stenzel, J., Muacevic, G., and Weber, K. H. (1987) *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 241, 974-981
31. Balsinde, J., and Mollinedo, F. (1988) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 151, 802-808
32. Balsinde, J., and Mollinedo, F. (1990) *Biochim. Biophys. Acta* 1052, 90-95
33. Di Virgilio, F., Lew, D. P., and Pozzan, T. (1984) *Nature* 310, 691-693
34. Rossi, F., Della Bianca, V., Grzeskowiak, M., and Bazzoni, F. (1989) *J. Immunol.* 142, 1652-1660
35. Brooks, R. C., McCarthy, K. D., Lapetina, E. G., and Morell, P. (1989) *J. Biol. Chem.* 264, 20147-20153
36. Balsinde, J., and Mollinedo, F. (1990) *FEBS Lett.* 259, 237-240
37. Kobayashi, M., and Kanfer, J. N. (1987) *J. Neurochem.* 48, 1597-1603
38. Pai, J. K., Liebl, E. C., Tettenborn, C. S., and Mueller, G. C. (1987) *Carcinogenesis* 8, 173-178
39. Martinson, E. A., Trilivas, I., and Brown, J. H. (1990) *J. Biol. Chem.* 265, 22282-22287
40. Zavoico, G. B., Halenda, S. P., Sha'afi, R. I., and Feinstein, M. B. (1985) *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 82, 3859-3862
41. Smith, C. D., Uhing, R. J., and Snyderman, R. (1987) *J. Biol. Chem.* 262, 6121-6127
42. Winkler, J. D., Sarau, H. M., Foley, J. J., and Crooke, S. T. (1988) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 157, 521-529
43. Balsinde, J., Diez, E. & Mollinedo, F. (1988) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 154: 502-508.
44. Balsinde, J., Diez, E., Fernández, B. & Mollinedo, F. (1989) *Eur. J. Biochem.* 186: 717-724.
45. O'Flaherty, J. T., and Nishihira, J. (1987) *J. Immunol.* 138, 1889-1895
46. Reinhold, S. L., Prescott, S. M., Zimmermann, G. A., and McIntyre, T. M. (1990) *FASEB J.* 4, 208-214
47. Balsinde, J., Fernandez, B., and Diez, E. (1990) *J. Immunol.* 144, 4298-4304
48. Fernandez, B., and Balsinde, J. (1990) *FEBS Lett.* 268, 107-109
49. Halenda, S. P., and Rehm, A. G. (1987) *Biochem. J.* 248, 471- 475
50. Feinstein, M. B., and Halenda, S. P. (1988) *Experientia* 44, 101-104
51. Tettenborn, C. S., and Mueller, G. C. (1988) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 155, 249-255
52. Anthes, J. C., Eckel, S., Siegel, M. I., Egan, R. W., and Billah, M. M. (1989) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 163, 657-664
53. Van der Meulen, J., and Haslam, R. J. (1990) *Biochem. J.* 271, 693-700
54. Qian, Z., and Drewes, L. R. (1989) *J. Biol. Chem.* 164, 21720- 21724
55. Channon, J. Y., and Leslie, C. C. (1990) *J. Biol. Chem.* 265, 5409-5413