

RESUMO

Os mastócitos participam do sistema imunológico liberando mediadores farmacologicamente ativos. A principal via de ativação dos mastócitos é através do receptor de alta afinidade para a imunoglobulina E (FcεRI). A ativação dos mastócitos via FcεRI culmina com a liberação de mediadores. A enzima PLD atua sobre fosfolipídios hidrolisando a fosfatidilcolina em ácido fosfatídico e colina. A PLD é ativada após o estímulo via FcεRI e possui um papel importante na transdução do sinal em mastócitos. Existem duas isoformas da enzima PLD, a PLD1 e a PLD2 que são expressas, diferentemente, de acordo com o tipo celular. Ambas as isoformas podem estar expressas numa mesma célula, apenas uma ou nenhuma. Neste estudo foram utilizadas células RBL-2H3 transfectadas para a super expressão PLD2 nas formas catalítica ativa (CA) e inativa (CI). O papel da PLD2 foi examinado nestas células com o objetivo de elucidar sua atuação no processo de secreção incluindo o aparelho de Golgi e os grânulos secretores. As células CA e CI possuem maior atividade de β-hexosaminidase total, porém quando estimuladas mostram uma deficiência na liberação desta enzima, quando comparadas com as células selvagens. A PLD2 nas células CA, CI, VET e RBL-2H3 está localizada no citosol, sendo abundante na região justanuclear, principalmente nas células CI, sugerindo uma associação com o aparelho de Golgi. A dupla marcação com o mAb AA4, que imunomarca gangliosídeos derivados do GD_{1b} da membrana plasmática e com anti-PLD2, mostrou que esta enzima não se localiza na membrana plasmática. A dupla marcação com anti-PLD2 e anti-GM130 mostrou que as áreas de maior concentração da PLD2 se co-localizam com o aparelho de Golgi, especialmente nas células CI. A marcação com anti-GM130 e os experimentos com microscopia eletrônica de transmissão mostraram que o aparelho de Golgi está organizado nas células CA e desorganizado nas células CI, onde se encontra disperso no citoplasma. Ainda, as células CI

expressam menos GM130 em comparação com as demais linhagens celulares. Quando a produção de PA pela PLD está inibida pelo 1-Butanol, as células CA apresentam as mesmas características fenotípicas das células CI. A incubação das CI com PA resulta na reestruturação do aparelho de Golgi. A manutenção estrutural do aparelho de Golgi, também está relacionada com os microtúbulos. Nas células CI o centro organizador de microtúbulos é dificilmente identificado. Os microtúbulos nas células CI são desordenados em comparação com as demais linhagens celulares. Estes resultados mostram que a produção de PA pela PLD2 é importante na organização de microtúbulos e na manutenção da estrutura do aparelho de Golgi. As alterações celulares relacionadas com os microtúbulos e o aparelho de Golgi afetam o processo secretor nestas células e, provavelmente, em outros tipos de células secretoras. Estes achados poderão levar a novas estratégias terapêuticas para controlar a liberação de mediadores durante processos alérgicos e inflamatórios.