

Estudo da rota de Externalização da Dissulfeto Isomerase Protéica (Pdia1) em Células Endoteliais

THAÍS LARISSA ARAUJO DE OLIVEIRA SILVA

Orientador: Prof. Dr. Francisco Rafael Martins Laurindo
Programa de Cardiologia

RESUMO

2015 Silva T L A O. *Estudo da rota de externalização da dissulfeto isomerase protéica (PDIA1) em células endoteliais [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2015.*

Dissulfeto isomerase protéica (PDIA1 ou PDI) é uma chaperona e ditiol-dissulfeto oxido-redutase residente do reticulo endoplasmático (RE). PDI é essencial à regulação da proteostase por ter função no enovelamento oxidativo de proteínas e na via de degradação associada ao RE (ERAD). Além disso, PDI interage fisicamente e regula a atividade de NADPH oxidases, e fora da célula é um regulador redox essencial à atividade de proteínas extracelulares. Este pool epi/pericelular da PDI (pecPDI) regula função de proteínas de membrana/secretadas, como integrinas, glicoproteínas gp120 do vírus HIV e outras, com múltiplas funções que incluem: trombose, ativação plaquetária, adesão celular, infecção viral e remodelamento vascular. A rota de externalização da PDI permanece obscura, e seu conhecimento pode indicar mecanismos dos efeitos (fisi)patológicos da PDI. A secreção da PDI pela rota RE-Golgi foi sugerida em células endoteliais infectadas pelo vírus da dengue, células pancreáticas e tireoideanas. No entanto, uma varredura sistemática das possíveis rotas de externalização da PDI não foi previamente realizada. Neste estudo, mostramos que células endoteliais (EC) externalizam constitutivamente, por rotas distintas, dois pools de PDI, de superfície celular e solúvel, enquanto na EC não estimulada PDI não foi detectada significativamente em micropartículas. PDI externalizada corresponde a ca.1,4% do pool total de PDI celular. Tanto a PDI de superfície celular como a solúvel foram

majoritariamente secretadas pela via de secreção não-convencional do tipo IV independente de GRASP. Contudo, a via de secreção clássica também contribui para externalização basal da PDI de superfície celular, mas não da solúvel basal ou estimulada por PMA, ATP e trombina indicando que todas envolvem escape do Golgi. Além disso, a externalização constitutiva da PDI de superfície em célula muscular lisa vascular também ocorre por via independente de Golgi. Externalização da PDI não foi detectavelmente mediada pela secreção não-convencional do tipo I, II, III, lisossomos secretórios, endossoma de reciclagem e transporte ativo (dependente de ATP) em EC. Considerando que chaperonas são vias essenciais de resposta a estresses, investigamos o efeito de estresse do RE e choque térmico na pecPDI. Estresse do RE não altera a PDI de superfície celular, mas aumenta PDI solúvel. Ambos os pools de PDI não foram alterados por choque térmico, embora a recuperação desse estresse diminua a secreção de PDI. Estes dados sugerem que a liberação de PDI é um processo regulado, dependente da natureza do estresse. Bloqueio da síntese de proteínas com cicloheximida não altera pecPDI, indicando que PDI recém-sintetizada não é preferencialmente externalizada e que o tráfego da PDI independe de outras proteínas recém-sintetizadas. Um aspecto importante do estudo foi indicar uma resiliência da pecPDI à modulação individual de distintas vias secretoras, consistente com uma estrita auto-regulação e possibilidade de vias sinérgicas e complementares. Estes resultados indicam que a externalização da PDI de superfície e PDI secretada possam ser externalizadas por mecanismos independentes. Estes processos compõem um processo regulado estritamente, consistente com papel homeostático da pecPDI.

Descritores: 1. Isomerasas de dissulfetos de proteínas 2. Espaço extracelular 3. Células endoteliais 4. Músculo liso vascular 5. Retículo endoplasmático 6. Biologia celular