

234

EVIDÊNCIAS DE DOIS SÍTIOS DE SÍNTESE DE ESFINGOMIELINA EM CÉLULAS DE SERTOLI.

Aline R. Zimmer; Juliana S. Zanettini; Ana L. Ziulkoski e Fátima C.R.Guma.(Departamento de Bioquímica,ICBS,UFRGS).

A esfingomielina (SM) é um lipídio que contribui para a estabilidade da estrutura da membrana celular e está envolvida nos processos de transdução de sinal através do ciclo da SM. A principal via de biossíntese de SM é catalisada pela esfingomielina sintase, a qual transfere o grupo fosfocolina da fosfatidilcolina (PC) para a ceramida. Porém, a localização celular da SM sintase ainda é discutida. Neste trabalho buscamos analisar os possíveis sítios de síntese de SM em células de Sertoli. Em trabalhos anteriores nós mostramos que as células de Sertoli possuem duas bandas cromatográficas de SM (SM1 e SM2), sugerindo uma diferente composição em ácidos graxos. No entanto, estas duas espécies de SM dividem-se igualmente entre os *pools* interno e externo. A existência de mais de um sítio de síntese de SM foi demonstrada em experimentos com monensina, um inibidor do transporte vesicular. Utilizando a técnica de "pulse-chase" (pulso = 2 h; chase = 2, 4 e 6 h) nós demonstramos que em células de Sertoli a SM é sintetizada de uma PC pré-existente e que a cinética de marcação da SM2 é mais lenta. Experimentos de ressíntese mostraram que a SM da superfície celular, que é degradada por esfingomielinase exógena (SMase), é repostada em 3 horas. A monensina mostrou apenas um efeito inibitório parcial sobre a ressíntese de SM1, e um segundo tratamento com SMase demonstrou que a fração ressintetizada atingiu a face externa da membrana. Quando a ressíntese foi realizada a 10°C, o segundo tratamento com SMase não causou degradação significativa de SM. Estes resultados mostram a existência de um sítio distal ao Golgi de síntese e evidenciam que este sítio não se encontra na membrana plasmática. Novas abordagens experimentais estão sendo utilizadas buscando determinar se este segundo sítio de síntese de SM está localizado nos endossomas perinucleares como descrito por Hopkins (FAPERGS, CNPq, FINEP).