
Índice

Abreviaturas	1
Resumo	7
Summary	11
Capítulo 1 – Introdução	13
1.1. Células dendríticas: origem, diferenciação e distribuição no organismo	15
1.2. Imunobiologia das células dendríticas	22
1.2.1. Captação de antígenos	22
1.2.2. Processamento de antígenos	24
1.2.3. Mecanismos de migração e maturação das células dendríticas	27
1.2.4. Co-estimulação dos linfócitos induzida pelas células dendríticas	31
1.2.5. Eventos biológicos após a interacção entre células dendríticas e linfócitos	34
1.3. Dermatite de contacto alérgica: função das células de <i>Langerhans</i>	38
1.4. Fisiologia e fisiopatologia do monóxido de azoto (NO)	44
1.4.1. Biossíntese do monóxido de azoto e efeitos biológicos	44
1.4.2. Mecanismos de regulação da produção do monóxido de azoto pela isoforma indutível da sintase do monóxido de azoto (iNOS)	48
1.4.2.1. Envolvimento do factor de transcrição NF- κ B na expressão da isoforma indutível da sintase do monóxido de azoto e na produção de monóxido de azoto: mecanismos moleculares de activação e desactivação do NF- κ B	50

1.4.3. O monóxido de azoto e a imunobiologia da pele	56
1.5. Objectivos do trabalho	59
Capítulo 2 – Métodos e materiais	61
2.1. Modelo biológico utilizado: linha celular de células dendríticas da pele de feto de murganho (FSDC)	61
2.1.1. Características gerais das FSDC	61
2.1.2. Condições de cultura das FSDC	62
2.2. Ensaio de redução do sal de tetrazólio MTT	63
2.3. Quantificação da concentração de nitritos nos sobrenadantes das culturas celulares (ensaio de <i>Griess</i>)	64
2.4. Detecção de proteínas por <i>Western blot</i>	65
2.5. Imunofluorescência e microscopia confocal	67
2.6. Ensaio do desvio da mobilidade electroforética (EMSA)	68
2.7. Detecção de ARN mensageiro por <i>Northern blot</i>	70
2.8. Análise estatística dos resultados	72
2.9. Materiais	73
Capítulo 3 – Efeito do LPS na expressão da isoforma indutível da sintase do monóxido de azoto e na activação do factor de transcrição NF-κB	75
3.1. Resumo	75
3.2. Introdução	76
3.3. Resultados	81

3.3.1. Transcrição do ARNm da iNOS, expressão da proteína iNOS e produção de NO estimuladas por LPS	81
3.3.2. Efeito de inibidores de cinases de proteínas na produção de NO estimulada por LPS	85
3.3.3. Efeito do tyrphostin B42 na migração para o núcleo da subunidade p65 do NF- κ B, na sua ligação ao ADN e na degradação citoplasmática do I κ B- α estimuladas por LPS	89
3.3.4. Efeito inibitório do antioxidante e inibidor do factor de transcrição NF- κ B, PDTC, na expressão da proteína iNOS e na produção de NO estimuladas por LPS	95
3.4. Discussão	97
Capítulo 4 – Efeito do GM-CSF na expressão da isoforma indutível da sintase do monóxido de azoto e na activação do factor de transcrição NF-κB	103
4.1. Resumo	103
4.2. Introdução	104
4.3. Resultados	106
4.3.1 Expressão da proteína iNOS e produção de NO estimuladas por GM-CSF	106
4.3.2. Efeito de inibidores de cinases de proteínas na produção de NO estimulada por GM-CSF	110
4.3.3. Migração das diferentes subunidades do factor de transcrição NF- κ B para o núcleo, ligação ao ADN e degradação citoplasmática do I κ B- α estimuladas por GM-CSF	114
4.3.4. Efeito inibitório do antioxidante e inibidor do factor de transcrição NF- κ B, PDTC, na expressão da proteína iNOS e na produção de NO estimuladas por GM-CSF	121

4.4. Discussão	123
Capítulo 5 – Efeito diferencial de alergénios de contacto na expressão da isoforma indutível da sintase do monóxido de azoto e na activação do factor de transcrição NF-κB	131
5.1. Resumo	131
5.2. Introdução	132
5.3. Resultados	134
5.3.1. Efeito dos alergénios de contacto níquel e DNFB na expressão da proteína iNOS e na produção de NO	134
5.3.2. Efeito dos alergénios de contacto níquel e DNFB na activação do factor de transcrição NF- κ B	137
5.4. Discussão	140
Capítulo 6 – Conclusões gerais e perspectivas	145
Bibliografia	151