

Resumo

As células dendríticas (DC), normalmente conhecidas como células apresentadoras de antígeno (APC) profissionais, desempenham um papel crucial na regulação da resposta imunológica. Estas células possuem a capacidade de captar, processar e apresentar antígenos aos linfócitos T virgens (*naive*), que desta forma são activados e entram num processo de proliferação e diferenciação celular. Nos tecidos periféricos, as células dendríticas encontram-se numa fase imatura e reactiva a sinais que indiquem uma inflamação ou infecção local. Exemplos destes sinais são o lipopolissacarídeo (LPS), o ARN proveniente de vírus, motivos de citosina e guanina (CpG) não metilados de ADN bacteriano e, ainda, citocinas inflamatórias, como o factor de necrose tumoral (TNF)- α , a interleucina (IL)-1 e a IL-2. As DC, após activação por estes agentes, sofrem um processo de maturação caracterizado pela produção de citocinas, designadamente quimiocinas e IL-12, pela expressão aumentada de moléculas de superfície que actuam como moléculas co-estimuladoras na apresentação de antígenos aos linfócitos (CD40, CD80, CD86, DC-SIGN) e de moléculas do complexo *major* de histocompatibilidade (MHC). Este processo de maturação ocorre em simultâneo com a migração das DC dos tecidos periféricos para os gânglios linfáticos, onde as DC induzem a activação dos linfócitos T e iniciam uma resposta imunológica específica.

Apesar de nos últimos anos terem sido identificadas algumas das modificações fenotípicas e funcionais ocorridas durante a diferenciação e maturação das DC, permanecem por esclarecer os mecanismos de sinalização intracelular activados nestes processos biológicos. O monóxido de azoto (NO), produzido pela isoforma indutível da sintase do monóxido de azoto (iNOS), modula as funções das células dendríticas, designadamente a captação de antígenos e a sua apresentação aos

linfócitos T. A expressão da proteína iNOS é modulada pelo factor nuclear de transcrição *kappa* B (NF- κ B) e diversos estudos demonstram o envolvimento deste factor de transcrição na diferenciação, maturação e sobrevivência das células dendríticas.

O trabalho apresentado nesta dissertação teve por objectivo o estudo dos eventos de sinalização intracelular que ocorrem após a interacção de LPS, citocinas e alergénios de contacto, com as DC, nomeadamente os que estão envolvidos na expressão da proteína iNOS. Como modelo experimental utilizou-se uma linha celular imatura, obtida a partir da pele de feto de murganho (FSDC), que possui as características morfológicas, fenotípicas e funcionais das células dendríticas da epiderme, designadas de células de *Langerhans*.

Deste modo, foi estudado o efeito do LPS e do factor estimulante de colónias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF) na expressão iNOS e na produção de NO por células FSDC. As vias de sinalização intracelular, activadas por LPS e GM-CSF, responsáveis pelo aumento da expressão da iNOS foram também investigadas. Os resultados obtidos demonstraram que o LPS e o GM-CSF aumentaram a expressão da iNOS com o consequente aumento da produção de NO pelas FSDC, tendo o LPS sido o estímulo mais potente. A expressão da iNOS induzida por LPS e GM-CSF demonstrou ser dependente da cinase de *Janus 2* (JAK2) e do factor de transcrição NF- κ B.

O efeito de dois alergénios de contacto, causadores de dermatite de contacto alérgica (DCA), o 2,4-dinitrofluorbenzeno (DNFB) e o níquel, na expressão da iNOS e na produção de NO foi alvo de estudo neste trabalho. O efeito destes dois antigénios na activação do factor de transcrição NF- κ B foi também investigado. Os resultados obtidos demonstraram que apenas o níquel aumentou a expressão da iNOS com o consequente aumento da produção de NO pelas células FSDC. Os dois alergénios de contacto induziram a ligação do NF- κ B ao ADN, mas activaram diferentes subunidades deste factor de transcrição.

O conhecimento das alterações biológicas e bioquímicas ocorridas durante a diferenciação e activação das células dendríticas é essencial para: i) aperfeiçoar estratégias imuno-terapêuticas que utilizam estas células com o objectivo de modular as respostas imunológicas contra cancro e infecções; ii) validar testes *in vitro* que permitam identificar compostos químicos com potencial para induzir DCA e, deste modo, substituir as técnicas actuais que recorrem a animais de laboratório.