

# ÍNDICE

<b>RESUMO</b>	<b>i</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>iii</b>
<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
Prefácio	2
1. Mastócitos	2
2. Ativação dos mastócitos mediada pelo FcεRI	4
3. Liberação dos mediadores	5
4. Fosfolipase D	8
4.1. Estrutura da PLD	10
4.2. Localização da PLD2	11
4.3. Regulação da PLD2	12
4.4. O papel da PLD2 no aparelho de Golgi	13
4.5. O papel da PLD2 na sinalização das células RBL-2H3	13
<b>OBJETIVOS</b>	<b>16</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>18</b>
1. Células	19
2. Anticorpos e marcadores	20
3. Ativação das células RBL-2H3 via FcεRI	22
4. Outros Reagentes	23
5. <i>Western-blotting</i>	23
6. Citometria de fluxo	24
7. Análise da viabilidade celular após incubação com 1-butanol	25
7.1. Azul de tripan	25
7.2. Iodeto de propídeo	25
8. Imunofluorescência	26
9. Ensaio de liberação de β-hexosaminidase	27
10. Microscopia eletrônica de transmissão	28
11. Estatística	29
<b>RESULTADOS</b>	<b>30</b>

1. A linhagem celular CI possui maior expressão da enzima PLD2 em relação às linhagens celulares CA, CI, VET e RBL-2H3	31
2. A liberação de $\beta$ -hexosaminidase é menor em células CA e CI em relação às células RBL-2H3 e às células transfectadas somente com o vetor, mas a quantidade desta enzima nos grânulos de células CA e CI é maior	34
3. A enzima PLD2 está localizada principalmente em uma região justanuclear das células CA, CI, VET e RBL-2H3	37
4. A enzima PLD2 não está associada com os gangliosídeos derivados de GD <sub>1b</sub> nas linhagens celulares estudadas	37
5. A enzima PLD2 é essencial para a manutenção da estrutura do aparelho de Golgi	39
6. 1-Butanol a 1% não interfere com a viabilidade das células RBL-2H3	42
7. A incubação com 1-Butanol resultou na desorganização da face cis do aparelho de Golgi	44
8. A incubação com PA recupera a organização estrutural do aparelho de Golgi das células CI	49
9. Os microtúbulos apresentam uma distribuição desordenada em células CI estimuladas via Fc $\epsilon$ RI	52
10. As células CA possuem um aumento na atividade de $\beta$ -hexosaminidase liberada após tratamento com PA	56
11. Após a incubação com PA os grânulos secretores das células CA, CI, VET e RBL-2H3 se concentram na região perinuclear	58
<b>DISCUSSÃO</b>	<b>63</b>
<b>CONCLUSÕES</b>	<b>71</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>73</b>