

## MASTÓCITOS EM CONDIÇÕES NORMAIS E PATOLÓGICAS — REVISÃO<sup>1</sup>

Raquel Rubia Rech<sup>2</sup>, Dominguita Lühers Graça<sup>3</sup>

### RESUMO

Os mastócitos são células importantes na imunidade e em condições patológicas do homem e de animais. A literatura mostra a descoberta de múltiplas funções dessas células bem como seu envolvimento na patogênese de determinadas doenças. Há um aumento considerável no número de modelos experimentais usados para demonstrar as atividades biológicas dos mastócitos. Essas células são reconhecíveis por métodos imunoenzimáticos para a detecção de quimase/triptase. Na ultra-estrutura, são observados grânulos característicos que estocam aminas biogênicas, enzimas e proteoglicanos. A ativação dos mastócitos depende de receptores de alta e baixa afinidade para imunoglobulinas: FcεRI, FcγRII e FcγRIII, e pode ser feita, alternativamente, por moléculas ligadas a imunoglobulina (interleucina, fragmentos do complemento) e a parasitas. Os mastócitos participam da indução da inflamação aguda e da reparação tecidual na fase crônica do processo. Essas células promovem as reações agudas e tardias da anafilaxia e estão associadas com condições proliferativas como mastocitose e mastocitoma, ambas relatadas em humanos e animais. A pesquisa atual visa conhecer profundamente os aspectos relacionados aos mastócitos para minimizar seus efeitos deletérios locais e sistêmicos.

**Palavras-chave:** mastócitos, inflamação, anafilaxia, mastocitomas.

### INTRODUÇÃO

Desde a sua descoberta em tecidos conjuntivos humanos, por Paul Ehrlich no final do século

XIX os mastócitos têm se destacado, por meio de diversas pesquisas ao longo dos anos, por sua diversidade biológica (METCALFE; BARAM; MEKORI, 1997). São células complexas, multifuncionais que têm papel central na imunidade natural e na adquirida (KIRSHENBAUM, 2000). As pesquisas mais recentes concentram-se no estudo dos fatores teciduais e celulares que controlam o número e a função dos mastócitos (KIRSHENBAUM, 2000), já que sua ubiquidade e funcionalidade são primordiais às funções de defesa do organismo (METCALFE; BARAM; MEKORI, 1997 e McNEIL, 1996).

### ORIGEM E DIFERENCIAÇÃO

Os mastócitos derivam de células pluri-potenciais da medula óssea que expressam o antígeno CD34 (GOLKAR; BERNHARD, 1997 e KATSAMBAS et al., 1999) e iniciam sua diferenciação sob a influência do fator de células tronco (*stem cell factor* – SCF) e da IL-3 (ROBBIE-RYAN; BROWN, 2002) de uma linhagem distinta dos monócitos e macrófagos e dos precursores dos granulócitos (SCOTT; STOCKHAM, 2000).

Em mastócitos murinos e humanos a aquisição de receptores de superfície e componentes intracelulares que caracterizam essas células como maduras ou totalmente diferenciadas, ocorre por um processo gradual realizado principalmente pelo SCF que se liga ao receptor tirosina-quinase *c-kit* expresso na membrana dos mastócitos (GALLI, 2000 e WEDEMEYER; GALLI, 2000). O SCF é produzido por células endoteliais, fibroblastos e células epiteliais e age em conjunto com diversas citocinas (ASHMAN, 1999) que incluem IL-3, IL-4, IL-9, IL-10 e fator de crescimento neural (*nerve growth factor* – NGF) (METCALFE; BARAM;

<sup>1</sup> Parte da dissertação de mestrado “Mastócitos em condições normais e patológicas com ênfase em mastocitomas de cães”.

<sup>2</sup> Doutoranda – Departamento de Patologia, Setor de Patologia Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria.

<sup>3</sup> Professora Titular – Departamento de Patologia, Setor de Patologia Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria.

Correspondência para: Dominguita Lühers Graça, Departamento de Patologia da Universidade Federal de Santa Maria. Prédio 20. Campus Camobi, Santa Maria, RS, CEP: 97105-900. E-mail: dlgraca@smail.ufsm.br

MEKORI, 1997 e SCOTT; STOCKHAM, 2000). Os mastócitos são expostos continuamente ou seqüencialmente a esses fatores de crescimento (GALLI, 2000). Além de expressarem o receptor *c-kit*, os mastócitos expressam FcεRI e FcγRII/III nos estágios iniciais de desenvolvimento antes de exibirem a maturação granular completa para serem reconhecidos morfológicamente (METCALFE; BARAM; MEKORI, 1997).

O modelo experimental utilizado para analisar o desenvolvimento e função dos mastócitos *in vivo* utiliza camundongos *Kit<sup>w</sup>/Kit<sup>w-v</sup>* (*knockout* para o receptor *c-kit*). Esses camundongos são anêmicos e virtualmente não possuem mastócitos, células germinativas e melanócitos, defeitos gerados por mutações que afetam ambas as cópias do *c-kit* (GALLI, 2000). A atividade dos mastócitos nesses camundongos pode ser seletivamente reconstituída, transferindo mastócitos imaturos derivados da medula óssea de camundongos cogênicos normais (YONG, 1997 e GALLI, 2000). Esta técnica produz camundongos *knockin*. Nesses animais é possível observar as diferentes respostas imunes na presença ou ausência dos mastócitos, bem como analisar a função dos mastócitos nos diferentes tecidos (WEDEMEYER; GALLI, 2000).

Em mastócitos cultivados *in vitro*, durante a sua maturação essas células expressam uma variedade de integrinas como VLA-4, VLA-5, p150,95, CD51 e CD61 e receptores quimiotáticos como CXCR2, CXCR4 e CCR5. Essas moléculas de superfície são importantes na determinação da adesão e migração dos mastócitos para os tecidos (KATSAMBAS et al., 1999).

Os precursores dos mastócitos migram da circulação para os tecidos periféricos, onde se relacionam intimamente com vasos sanguíneos e linfáticos, nervos periféricos e superfícies epiteliais (GOLKAR; BERNHARD, 1997 e KAWAKAMI; GALLI, 2002). Nesses locais, expressam o fenótipo final sob a influência do SCF e outras citocinas localmente produzidas como IL-3, IL-4, IL-9 e IL-10 (METCALFE; BARAM; MEKORI, 1997; SCOTT; STOCKHAM, 2000). A maturação dos mastócitos é altamente dependente dos fatores microambientais produzidos pelos tecidos nos quais eles residem (METCALFE; BARAM; MEKORI, 1997).

## MORFOLOGIA DOS MASTÓCITOS E MÉTODOS PARA ESTUDO

A morfologia dos mastócitos depende da sua localização. No tecido conjuntivo são arredondados, em aposição a vasos são alongados a

ovóides e nas fibras dermais são fusiformes, estrelados ou filiformes (YONG, 1997). Mastócitos são residentes normais de muitos tecidos, incluindo medula óssea e linfonodos, mas não são reconhecidos no sangue de mamíferos domésticos saudáveis (SCOTT; STOCKHAM, 2000).

O mastócito maduro é uma célula relativamente grande, fusiforme, poligonal ou oval, de 15 a 20  $\mu\text{m}$  com citoplasma levemente eosinofílico contendo grânulos no seu interior. O núcleo é basofílico, levemente excêntrico e relativamente grande, com 4 a 7  $\mu\text{m}$  de diâmetro e múltiplos agregados de cromatina. Um ou mais nucléolos podem estar presentes. O mastócito é caracterizado por grânulos citoplasmáticos de 0,2 a 1,5  $\mu\text{m}$  de diâmetro que ocupam 50 a 55% do citoplasma (YONG, 1997; KATSAMBAS et al., 1999 e JOLLY et al., 2001). Ultra-estruturalmente esses grânulos secretores caracterizam os mastócitos e possuem diversas formas: espiralados, cristalinos, ou em partículas. Pode existir um formato predominante ou a combinação deles (DVORAK, 1995 e GHADIALLY, 1988). Os grânulos característicos dos mastócitos humanos contêm estruturas lamelares ou membranosas que estão dispostas em rolos cilíndricos semelhantes a papiros (GHADIALLY, 1984).

Mastócitos teciduais da mesma espécie e de diferentes espécies possuem variações quantitativas, bioquímicas, histoquímicas e funcionais. São numerosos no homem, macaco, camundongo, rato e peixe, mas escassos no coelho (YONG, 1997). De acordo com o conceito de heterogeneidade proposto por Enerbäch (1966), foram estabelecidas duas categorias de mastócitos em camundongos: mastócitos do tecido conjuntivo (CTMC) e mastócitos da mucosa (MMC), que são determinadas pela localização e pela dependência da ativação pelas células T. Os MMCs são altamente sensíveis à estimulação pelas células T (MOTA, 1995; METCALFE; BARAM; MEKORI, 1997 e YONG, 1997). Os mastócitos humanos são classificados principalmente pela presença de duas proteases neutras denominadas quimase e triptase (ZAPPULLA et al., 2002). De acordo com o conteúdo das proteases neutras há 3 subtipos: triptase e quimase ( $\text{MC}_{\text{TC}}$ ), quimase ( $\text{MC}_{\text{C}}$ ) e triptase ( $\text{MC}_{\text{T}}$ ). Em termos de localização, os  $\text{MC}_{\text{T}}$  correspondem aos MMC de roedores, e os  $\text{MC}_{\text{TC}}$  correspondem aos CTMC (METCALFE; BARAM; MEKORI, 1997). Os  $\text{MC}_{\text{TC}}$  também possuem catepsina G e carboxipeptidase (YONG, 1997). A diversidade funcional dos mastócitos em humanos é muito mais complexa que a divisão em três fenótipos. Diferenças na resposta, morfologia e tamanhos dos grânulos

ocorrem em mastócitos da mesma subpopulação (ZAPPULLA et al., 2002).

Os grânulos coram-se metacromaticamente com certos corantes básicos, provavelmente naqueles grânulos que possuem proteoglicanos: sulfato de condroitina e heparina. Esses por sua vez, ligam-se à histamina, proteases neutras e carboxipeptidases primariamente por ligações iônicas que se atraem mutuamente contribuindo para a estocagem desse material em grânulos citoplasmáticos (BEIL; SCHULZ; WEFELMEYER, 2000; GALLI, 2000 e WEDEMEYER; GALLI, 2000). As proteínas dominantes dos grânulos são triptase e quimase que compreendem 25% das proteínas celulares (SCHWARTZ; KEPLEY, 1994 e BEIL; SCHULZ; WEFELMEYER, 2000). Para observar as proteases é aconselhável usar a solução de Carnoy que proporciona rápida fixação (CULLING; ALLISON; BARR, 1985 e RAMIREZ-ROMERO et al., 2000).

Os métodos histoquímicos mais eficientes para marcação dos mastócitos são: azul de toluidina em pH baixo e técnicas enzimo-histoquímicas para detectar especificamente triptase ou quimase (METCALFE; BARAM; MEKORI, 1997; JOLLY et al.; 2000). A atividade da quimase é detectada com naftol AS-D cloroacetato e a atividade da triptase é detectada com Z-Ala-Ala-Lys-4-metóxi-2-naftilamida (SHIMIZU et al., 2001). Mesmo assim, a densidade e propriedades de coloração dos mastócitos são influenciadas por diversos fatores como idade e saúde dos animais. Mastócitos imaturos expressam primeiramente proteoglicanos; a expressão de proteases ocorre no estágio final de maturação. Em condições inflamatórias agudas, o número de mastócitos detectáveis diminui em resposta à desgranulação (RAMÍREZ-ROMERO et al., 2000).

Nas técnicas imunoistoquímicas utilizam-se anticorpos monoclonais contra triptase e quimase ou contra receptores de superfície dos mastócitos (JOLLY et al., 2000; RAMÍREZ-ROMERO et al., 2000 e OZAKI et al., 2002). As proteases são os melhores marcadores específicos para mastócitos (METCALFE; BARAM; MEKORI, 1997).

A análise de receptores de superfície usando uma combinação de imunofluorescência com anticorpos monoclonais e coloração de azul de toluidina ajuda a diferenciar os mastócitos dos basófilos e outras linhagens celulares, além de evidenciar sua heterogeneidade (YONG, 1997 e GALLI, 2000). Mastócitos da pele, pulmão, útero, tonsilas e rim expressam *c-kit*, CD9, CD29, CD43, CD44, CD49D, CD51, CD54, CD59 e CD63. Apenas os mastócitos da pele expressam CD88, e

também são responsivos à substância P e à morfina (BEIL; SCHULZ; WEFELMEYER, 2000).

## ATIVAÇÃO DOS MASTÓCITOS

### a) Ativação dependente do receptor FcεRI

A membrana citoplasmática de mastócitos possui receptores de alta afinidade para a imunoglobulina E (IgE) denominado FcεRI (KUMAR; ABBAS; FAUSTO, 2005; GALLI, 2000 e WEDEMEYER; GALLI, 2000). Altos níveis desse receptor são restritos aos mastócitos e basófilos, enquanto baixos níveis são detectados em células dendríticas, monócitos, eosinófilos e 30% das células B (WEDEMEYER; GALLI, 2000). Há de  $10^4$  a  $10^6$  receptores por mastócitos e basófilos e a desgranulação ocorre com a agregação de 1 a 15% desses receptores (SCHWARTZ; KEPLEY, 1994). A maior parte da IgE localiza-se nos tecidos e está ligada aos mastócitos pelo FcεRI. Quando a IgE está conjugada aos mastócitos e basófilos possui meia-vida de 11 a 12 dias; livre no soro, dura somente 2 dias. A produção de IgE é favorecida por certos antígenos, geralmente enzimas, bem como vias específicas de apresentação de antígenos ao sistema imune (JANEWAY et al., 2001). A ligação cruzada dos antígenos com IgE pré-formada ligada ao receptor FcεRI dos mastócitos e basófilos produz a liberação e síntese de uma série de mediadores pela ativação de diversas tirosino-quinases (METCALFE; BARAM, MEKORI, 1997; KUMAR; ABBAS; FAUSTO, 2005 e KAWAKAMI; GALLI, 2002).

### b) Ativação independente do FcεRI

Mastócitos podem ser ativados independentemente da ligação cruzada de IgE e antígeno ao FcεRI (KATSAMBAS et al., 1999; GALLI, 2000). Essas vias adicionais de ativação são importantes em reações não-imunomediadas ou amplificam as reações mediadas pela IgE (ABBAS; LICHTMAN; POBER, 2000). Mastócitos expressam receptores de baixa afinidade para IgG denominados FcγRII e FcγRIII (McNEIL, 1996 e GALLI, 2000). A ativação do FcγRIII pela agregação de IgG ou complexos imunes promove a adesão, desgranulação e síntese de TNF-α pelos mastócitos (METCALFE; BARAM; MEKORI, 1997).

Peptídeos, citocinas como IL-3 e GM-CSF e SCF, quimiocinas como IL-8, MCP-1, MIP-1a e RANTES, fatores da cascata do complemento, parasitas e bactérias, podem ser responsáveis pela

ativação dos mastócitos (McNEIL, 1996 e ZAPPULLA et al., 2002). Componentes da bainha de mielina como proteína básica mielínica (MBP) e glico-proteína oligodendrocítica mielínica também ativam mastócitos (ROBBIE-RYAN; BROWN, 2002).

### **MEDIADORES LIBERADOS PELOS MASTÓCITOS**

Os mediadores produzidos e liberados pelos mastócitos possuem diferentes atividades biológicas. Um mediador pode ter múltiplas funções, bem como vários deles podem ter funções similares (METCALFE; BARAM; MEKORI, 1997). Os mediadores pré-formados incluem aminas biogênicas como histamina e serotonina (essa última somente em ratos e camundongos), enzimas (triptase, quimase, carboxipeptidase, catépsina G, hidrolases ácidas, fosfolipase, aminopeptidase e hexoaminodase) e proteoglicanos (heparina e sulfato de condroitina). Os mediadores sintetizados incluem IL1 a IL8, TNF- $\alpha$ , IL-12, IL-13, IL-15, quimiocinas, fatores de crescimento e de angiogênese (VEGF e PDGF), bem como prostaglandinas e leucotrienos (McNEIL, 1996; SCOTT; STOCKHAM, 2000; ROBBIE-RYAN; BROWN, 2002).

### **FUNÇÕES BIOLÓGICAS DOS MASTÓCITOS**

A ampla variedade de mediadores liberados pelos mastócitos permite desenvolver e modular diversos processos fisiológicos e patológicos. A reação anafilática demonstra o poder dos mastócitos na iniciação da resposta inflamatória; quando apropriadamente regulada e localizada, a ativação dessas células é significativamente benéfica (METCALFE; BARAM; MEKORI, 1997).

#### **a) Inflamação aguda e crônica**

Os mastócitos estão intimamente envolvidos com a patogenia da inflamação aguda, principalmente pela liberação da histamina que produz a vasodilatação venular (BOCHSLER; SLAUSON, 2002) e PAF que promove a adesão leucocitária dependente de CD18 (McNEIL, 1996).

Mastócitos também produzem as substâncias necessárias para os três fatores essenciais do recrutamento dos leucócitos que incluem selectinas, moléculas de adesão e fatores quimiotáticos. Em leucócitos recrutados para os tecidos, os mastócitos liberam diversos produtos como GM-CSF, IL-5 e IL-3, que previnem a apoptose dessas células, prolongam o tempo de sobrevivência, bem

como estimulam funções efetoras (McNEIL, 1996 e KUMAR; ABBAS; FAUSTO, 2005). Os leucócitos recrutados envolvidos na imunidade adquirida também são influenciados pelas citocinas imunomodulatórias liberadas pelos mastócitos. A IL-4 e provavelmente IL-10 induzem a diferenciação das células T<sub>H</sub>2. Estudos em mastócitos derivados da cavidade peritonial de camundongos evidenciaram a expressão de complexos de histocompatibilidade da classe II (MHC II) que poderia levar à proliferação de linfócitos T (METCALFE; BARAM; MEKORI, 1997). Mastócitos permitem a interação intercelular através da expressão de várias moléculas de superfície (ZAPPULLA et al., 2002).

Mastócitos também participam dos processos de fibrose e remodelação tecidual (YAMAMOTO et al., 2001). As áreas fibróticas possuem excesso de mastócitos, muitos dos quais estão desgranulados (METCALFE; BARAM; MEKORI, 1997). Embora a produção de colágeno pelos fibroblastos é induzida por TNF- $\alpha$  e TGF- $\beta$  (YAMAMOTO et al., 2001), a histamina e heparina podem estimular o crescimento dos fibroblastos, síntese de colágeno e formação de cicatriz (METCALFE; BARAM; MEKORI, 1997). A triptase induz a síntese de metaloproteinases (McNEIL, 1996). As quimiocinas também influenciam a remodelação tecidual porque muitas delas como IL-8, RANTES, MIP-1 $\alpha/\beta$  e MCP-1 induzem a expressão de metaloproteinases em diversos leucócitos (GILLITZER; GOEBELER, 2001). Mastócitos se acumulam em situações dependentes da angiogênese como cicatrização de feridas, formação de hemangiomas e outras neoplasias (METCALFE; BARAM; MEKORI, 1997). Dentre as substâncias que estimulam a angiogênese direta ou indiretamente destacam-se a heparina, histamina e TGF- $\beta$  (METCALFE; BARAM; MEKORI, 1997 e BOCHSLER; SLAUSON, 2002). MIP-1 $\alpha$  e MCP-1 possuem efeito angiogênico indireto (GILLITZER; GOEBELER, 2001).

#### **b) Mastócitos e o tecido nervoso**

Mastócitos são células residentes normais do encéfalo de diferentes espécies de mamíferos e aves (YONG, 1997). Não são numerosos e encontram-se próximos a vasos sanguíneos na leptomeninge, região tálamo-hipotalâmica, dura-máter e plexo coróide. A maioria deles possui fenótipo CTMC. Sob condições fisiológicas possuem poucos receptores Fc $\epsilon$ RI e não expressam c-kit (ZAPPULLA et al., 2002). Os mastócitos também estão em íntima aposição com terminações nervosas (endoneuro) e neurônios (METCALFE; BARAM; MEKORI,

1997). A comunicação entre mastócitos e células nervosas é bidirecional, pois produtos secretados pelos dois tipos celulares possuem efeitos estimulatórios (METCALFE; BARAM; MEKORI, 1997 e ZAPPULLA et al., 2002). Observou-se um aumento no número ou atividade dos mastócitos em doenças neurológicas como encefalomielite auto-imune experimental em camundongos e esclerose múltipla em humanos. Nessas doenças, os mastócitos contribuem na inflamação aumentando a permeabilidade da barreira hemato-encefálica, recrutando leucócitos para o sistema nervoso central e destruindo a bainha de mielina (DIETSCH; HINRICHS, 1991 e ZAPPULLA et al., 2002).

### c) Imunidade contra patógenos

Há proliferação local de mastócitos durante certas infecções parasitárias por helmintos ou ectoparasitas que são associadas à ligação com a IgE. Os mediadores liberados podem causar dano direto ao parasita ou recrutar células efetoras como eosinófilos, induzir a secreção de muco e aumentar o peristaltismo para expulsão do parasita. A ativação dos mastócitos pode ser inespecífica, por substâncias derivadas do parasita (METCALFE; BARAM; MEKORI, 1997). Os mastócitos são uma defesa complementar durante a resposta imune adquirida, mas podem secretar citocinas que promovem autorregulação ou atenuação da resposta imune (WEDEMEYER; GALLI, 2000). Lipopolissacarídeos e moléculas de adesão das bactérias induzem a liberação de TNF- $\alpha$  dos mastócitos que recruta leucócitos circulantes com propriedades bactericidas para o local da infecção (ROBBIE-RYAN; BROWN, 2002 e UTHAISANGSOOK et al., 2002). Essa ativação pode ser indireta, por meio do sistema complemento (GALLI, 2000).

### d) Hipersensibilidade do Tipo I

O contato com o antígeno leva à indução de uma resposta imune protetora, mas também a reações que podem ser lesivas ao tecido (KUMAR; ABBAS; FAUSTO, 2005). A hipersensibilidade do tipo I é uma reação imunológica que se desenvolve rapidamente, resultante da combinação de um alérgeno com IgE ligadas a mastócitos e basófilos (McNEIL, 1996). A severidade e localização da reação dependem do número e localização de mastócitos estimulados que está intimamente relacionado ao grau de sensibilização do animal, da quantidade de antígenos envolvidos e da sua via de administração. A composição genética do

hospedeiro também influencia nos níveis de sensibilidade dos indivíduos a diferentes alérgenos (BROWN; SUTER; SLAUSON, 2002)

Geralmente há duas fases bem definidas: uma resposta inicial e uma fase tardia. A resposta inicial ocorre em segundos e se caracteriza pelo rápido aumento da permeabilidade vascular e espasmo do músculo liso (WEDEMEYER; GALLI, 2000). O principal mediador envolvido nessa fase é a histamina (JANEWAY et al., 2001). A fase tardia surge duas a oito horas depois da exposição ao alérgeno e dura vários dias. É causada pela síntese e liberação de leucotrienos, quimiocinas e citocinas pelos mastócitos ativados que são responsáveis pelo recrutamento de leucócitos principalmente linfócitos T<sub>H</sub>2, eosinófilos e basófilos (MOTA, 1995 e JANEWAY et al., 2001). Um dos mediadores mais importantes na fase tardia é o PAF que pode causar a liberação de LTC<sub>4</sub> dos eosinófilos (CHARLESWORTH, 1997). Se o antígeno persistir, essa resposta tardia pode facilmente se converter para uma resposta inflamatória crônica pela estimulação das células T<sub>H</sub>2 (JANEWAY et al., 2001). Certas citocinas dos mastócitos como TNF- $\alpha$ , VEGF e TGF- $\beta$  podem contribuir para a inflamação alérgica crônica com efeitos nos fibroblastos e células endoteliais vasculares (CHARLESWORTH, 1997 e WEDEMEYER; GALLI, 2000).

A reação pode ser sistêmica ou local e as manifestações clínicas associadas dependem da porta de entrada do alérgeno (KUMAR; ABBAS; FAUSTO, 2005 e JANEWAY et al., 2002) que pode ser por inalação, ingestão ou subcutânea (ABBAS; LICHTMAN; PODER, 2000 e JANEWAY et al., 2001). A inalação é a via mais comum de entrada do alérgeno e, o melhor exemplo de afecção respiratória alérgica em animais é a doença pulmonar obstrutiva crônica em eqüinos. A reação de hipersensibilidade do tipo I também está envolvida em diversas dermatopatias de pequenos animais. A atopia canina é uma hipersensibilidade hereditária a múltiplos alérgenos, representa 10% das desordens cutâneas em cães e é uma das causas mais comuns de prurido crônico nessa espécie. Outras dermatopatias com envolvimento da hipersensibilidade tipo I incluem hipersensibilidade alimentar, medicamentosa, à picada de pulga e urticária (WELLE et al., 1999 e BROWN; SUTER; SLAUSON, 2002).

Para o tratamento dessas doenças, utilizam-se principalmente corticosteróides e anti-histamínicos. Os corticosteróides atuam de diversas formas na diminuição do número de mastócitos no local da lesão. Podem reduzir a produção local de

SCF, inibem a produção de IL-4 e expressão de ICAM-1 e diminuem a expressão de diversos mediadores incluindo citocinas (McNEIL, 1996 e KIRSHENBAUM, 2000). Esses medicamentos são altamente eficientes, mas possuem diversos efeitos sistêmicos. Outras alternativas de tratamento são o uso de anticorpos que bloqueiam o domínio de ligação da IgE com FcεRI ou imunoterapia específica que envolve repetidas injeções de alérgenos em baixas doses. Recentes pesquisas demonstram a existência de diversos receptores inibitórios que atenuam a ativação de mastócitos induzida por FcεRI e que poderiam ser utilizados como alvos na terapia dessas doenças (OTT; CAMBIER, 2000).

### CONDIÇÕES NEOPLÁSICAS

A proliferação excessiva dos mastócitos pode estar associada à expansão clonal dessas células com mutações no protooncogene *c-kit* que decodifica o receptor tirosinaquinase (KRÖBER et al., 1997) ou desregulação da apoptose com aumento da expressão da proteína anti-apoptótica *bcl-2* (KIRSHENBAUM, 2000). Em humanos, mastocitose consiste de um grupo heterogêneo de condições crônicas que são caracterizadas pela proliferação excessiva de mastócitos na pele e órgãos internos (KATSAMBAS et al., 1999). A doença é congênita em 15% dos casos e em 40% desses pacientes a doença ocorre antes dos 2 anos de idade. A manifestação cutânea atinge 90% dos casos. Em adultos, a mastocitose é mais freqüente entre 20 a 40 anos de idade (HARTMANN; HENZ, 2001).

Há três tipos de manifestações: cutânea, reativa e sistêmica. As lesões cutâneas incluem urticária pigmentosa, mastocitoma, mastocitose cutânea difusa e telangiectasia macular eruptiva (KATSAMBAS et al., 1999 e HARTMANN; HENZ, 2001). Os mastocitomas solitários de crianças regridem espontaneamente depois de alguns anos (KATSAMBAS et al., 1999). As manifestações reativas são decorrentes da liberação dos mediadores pela desgranulação dos mastócitos. Esses sinais incluem úlceras gastrintestinais, hipotensão e reações anafiláticas. A mastocitose sistêmica caracteriza-se pela proliferação sistêmica dos mastócitos, principalmente em ossos, fígado, baço e linfonodos, associada ou não à leucemia mastocitária (GOLKAR; BERNHARD, 1997; KATSAMBAS et al., 1999 e HARTMANN; HENZ, 2001).

O diagnóstico é baseado na história clínica, exame físico, biópsias, análise dos níveis de triptase e metabólitos da histamina no soro (HARTMANN;

HENZ, 2001). Os mastócitos são identificados por meio de métodos histoquímicos, enzimo-histoquímicos ou imunoistoquímicos específicos (MARUYAMA et al., 1998).

Na forma sistêmica, o prognóstico é reservado a desfavorável. Pacientes com mastocitose limitada à pele tem o melhor prognóstico (HARTMANN; HENZ, 2001).

Em animais, o termo mastocitose é empregado para designar a proliferação de mastócitos não-neoplásicos em processos reativos como reações inflamatórias e alérgicas. Nesses casos, geralmente designa-se a reação como "mastocitose reativa". "Mastocitose maligna" é o termo utilizado quando há proliferação multifocal maligna de mastócitos, geralmente associada à leucemia mastocitária (PULLEY; STANNARD, 1990).

Em cães, os mastocitomas são as neoplasias cutâneas mais freqüentes (THAMM; VAIL, 2001). A alta prevalência desta neoplasia foi confirmada em um levantamento realizado nos arquivos do Setor de Patologia Veterinária do Hospital de Clínicas Veterinárias da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) em um período de 23 anos (1980-2002). Em 2883 biópsias de cães, 26,7% corresponderam a biópsias de pele, sendo que os mastocitomas corresponderam a 4,3% do número total de biópsias, 16,2% das biópsias de pele e 23,2% das neoplasias cutâneas.

Devido à alta prevalência, os mastocitomas também são estudados sob o ponto de vista epidemiológico (ex.: idade, raças predispostas), comportamento biológico e grau histológico. Nesse levantamento observou-se que a freqüência de mastocitomas aumentou significativamente nos últimos 3 anos, de 3,5% de todas as biópsias para 7,5%. Houve uma correlação positiva entre o número de biópsias de cães com mais de 6 anos e a incidência de mastocitomas. Cães da raça Boxer foram os mais suscetíveis, como descrito na literatura (THAMM; VAIL, 2001).

Em virtude da ampla variação no padrão histológico dos mastocitomas, foram atribuídos 3 graus histológicos (I, II e III) a eles, que se tornaram um parâmetro importante para determinar o prognóstico e a escolha de tratamento pelo clínico. Apesar desse sistema seguir diversas características histológicas pré-definidas, muitas vezes a classificação é subjetiva, pois patologistas podem determinar diferentes graus para o mesmo tumor (STREFEZZI; XAVIER; CATÃO-DIAS, 2003). Atualmente, o laboratório de Patologia Veterinária, vem implantando a técnica de AgNOR (regiões nucleolares argirofílicas), que mede o índice de

proliferação celular e permite objetividade no prognóstico dos mastocitomas (RECH et al., 2004). Outros marcadores de proliferação celular (PCNA e Ki-67) e marcadores da expressão de genes supressores tumorais também são potenciais métodos para predizer o prognóstico desta neoplasia. A expressão da proteína nuclear p21 que faz parte do complexo de quinases ciclina-dependentes demonstrou ser útil como marcador para a progressão dos mastocitomas (WU; HAYASHI; INOUE 2004). A morfometria celular e nuclear de aproximadamente 200 mastócitos tumorais, colhidos por meio de biópsia aspirativa e corados com panótico ou hematoxilina e eosina foram determinadas por métodos computadorizados e comparadas com o grau histológico dos mesmos tumores. Essa técnica revelou aumento da área nuclear, diâmetro e perímetro dessas células com o aumento do grau histológico e pode contribuir para estabelecer um prognóstico mais preciso (STREFEZZI; XAVIER, CATÃO-DIAS, 2003).

Existem métodos adicionais para auxiliar no diagnóstico dos mastocitomas, principalmente naqueles de pouca diferenciação (THAMM; VAIL, 2001). São usadas colorações histoquímicas como azul de toluidina e azul alciano que possuem afinidade pelo conteúdo dos grânulos citoplasmáticos dos mastócitos (SIMOES; SCHONING, 1994). Métodos imunoistoquímicos para c-kit e triptase demonstraram grande especificidade para marcar mastócitos neoplásicos, principalmente para determinar o valor prognóstico de mastocitomas de grau II. Recentemente foram descritos 3 modelos de imunoistoquímica para o receptor KIT que foram definidos de acordo com os seguintes parâmetros: i) coloração citoplasmática associada a membrana; ii) coloração citoplasmática focal ou multifocal com coloração diminuída associada a membrana; e iii) coloração citoplasmática difusa. Mastocitomas menos diferenciados demonstraram imunoreatividade acentuada no citoplasma (KIUPEL et al., 2004). Esses métodos auxiliam no diagnóstico diferencial dos mastocitomas pouco diferenciados de outros tumores de células redondas (OZAKI et al., 2002).

## COMENTÁRIOS

Os mastócitos são células multifuncionais que participam desde o processo de inflamação aguda até a reparação tecidual. Há crescente investigação sobre a importância dessas células em diversos processos imunológicos em seres humanos. Para estudar as múltiplas funções dos

mastócitos, numerosos modelos experimentais são desenvolvidos em animais de laboratório e *in vitro* com emprego de técnicas avançadas.

Pesquisas relacionadas com mastócitos criam fontes adicionais de conhecimento que permitem entender a patogenia das doenças onde essas células são detectadas. Os aspectos específicos de cada intervenção ajudam na estratégia terapêutica e no prognóstico.

## Mast cells in normal and pathological conditions — a review

### ABSTRACT

Mast cells are involved in immunity and pathological conditions of man and animals. Recent reports described several functions of these cells as well as their involvement in the pathogenesis of certain diseases. Experimental models have demonstrated several biological activities of mast cells. These cells are labelled by immune-enzymatic methods that detect chymase and tryptase. Ultrastructurally they show typical granules in which biologically active enzymes are stored. Mast cell activation is triggered by high and low affinity immunoglobulin receptors such as FcεR1, FcγR2 and FcγR3, and alternatively on immunoglobulin-bound molecules i.e. IL and complement, and parasites. Mast cells are involved in the induction of acute inflammation and tissue repair. These cells promote acute and delayed anaphylaxis and they are associated with proliferative conditions such as mastocytosis and mast cell tumors, both reported in animals and man. Current research aims a deep knowledge of all mast cell features to minimize their local and systemic deleterious effects.

**Keywords:** mast cells, inflammation, anaphylaxis, mast cell tumors.

### REFERÊNCIAS

ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; POBER, J.S. **Cellular and molecular immunology**. 4. ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2000. 553 p.

ASHMAN, L.K. The biology of stem cell factor and its receptor C-kit. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, Exeter, v. 31, p. 1037-1051, 1999.

BEIL, W.J.; SCHULZ, M.; WEFELMEYER, U. Mast cell granule composition and tissue location — a close correlation. **Histology and Histopathology**, Murcia, v. 15, p. 937-946, 2000.

BOCHSLER P.N.; SLAUSON, D.O. Inflammation and repair of tissue. In: SLAUSON, D.O.; COOPER, B.J. **Mechanisms of disease: a textbook of comparative pathology**. 3. ed. St Louis: Mosby, 2002. Cap. 4. p. 140-245.

BROWN, T.T.; SUTER, M.M.; SLAUSON, D.O. Immunopathology. In: SLAUSON, D.O.; COOPER, B.J. **Mechanisms of disease: a textbook of comparative pathology**. 3. ed. St Louis: Mosby, 2002. Cap. 5. p. 246-297.

CHARLESWORTH, E.N. The role of basophils and mast cells in acute and late reactions in the skin. **Allergy: European Journal of Allergy & Clinical Immunology**, Supplement, v. 52, n.34, p.31-43, 1997.

CULLING, C.F.A.; ALLISON, R.T.; BARR, W.T. **Cellular pathology technique**. 4. ed. London: Butterworths, 1985. Cap. 3: Staining and impregnation, p. 111-152.

DIETSCH, G.N.; HINRICHS, D.J. Mast cell proteases liberate stable encephalitogenic fragments from intact myelin. **Cellular Immunology**, New York. v. 135, p. 541-548, 1991.

DVORAK, A.M. Ultrastructural Analysis of Human Mast Cells and Basophils. In: MARONE, G. Human Basophils and Mast Cells: Biological Aspects. **Chemical Immunology**, Basel, v. 61, p. 1-33, 1995.

GALLI, S.J. Mast cells and basophils. **Current Opinion in Hematology**, v. 7, n.1, p.32-39, 2000.

GHADIALLY, F.N. **Diagnostic Ultrastructural pathology. A self-evaluation manual**. Tiptree: Butterworths, 1984. 50 p.

GHADIALLY, F.N. **Ultrastructural pathology of the cell and matrix**. 3. ed. Tiptree: Butterworths, 1988. 2 v. V. 1. Cap. 4: Golgi complex and secretory granules, p. 396-402.

GILLITZER, R; GOEBELER, M. Chemokines in cutaneous wound healing. **Journal of Leukocyte Biology**, New York, v. 69, p. 513-521, 2001.

GOLKAR, L.; BERNHARD, J.D. Mastocytosis. **The Lancet**, London, v. 349, p. 1379-1385, 1997.

HARTMANN, K.; HENZ, B.M. Mastocytosis: recent advances in defining the disease. **British Journal of Dermatology**, Oxford, v. 114, p 682-695, 2001.

JANEWAY, C.A.; TRAVERS, P.; WALPORT, M.; SHLOMCHIK, M. **Immunobiology: The immune system in health and disease**. 5. ed. New York: Garland, 2001. 732 p.

JOLLY, S.; DETILLEUX, J.; COIGNOUL, F.; DESMECHT, D. Enzyme-histochemical detection of a chymase-like proteinase within bovine mucosal and connective tissue mast cells. **Journal of Comparative Pathology**, Edinburgh, v. 122, p. 155-162, 2000.

JOLLY, S.; THOMAS, C.; GENICOT, B.; DESSY-DOIZÉ, C.E.; COIGNOUL, F.L.; DESMECHT, D. Effect of intravenous platelet-activating factor on bovine pulmonary mast cells. **Journal of Comparative Pathology**, Edinburgh, v. 125, p. 81-89, 2001.

KATSAMBAS, A.D.; KARPOUZIS, A.J.; KOU-MANTAKI-MATHIOUDAKI, E.; JORIZZO, J.L. Mastocytosis with skin manifestations: current status. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 13, p. 155-165, 1999.

KAWAKAMI, T.; GALLI, S. Regulation of mast-cell and basophil function and survival by IgE. **Nature reviews: Immunology**, London, v. 2, p. 773-783, 2002.

KIRSHENBAUM, A. Regulation of mast cell number and function. **Hematology/Oncology Clinics of North America**, Philadelphia, v. 14, p. 497-516, 2000.

KIUPEL, M.; WEBSTER, J.D.; KANEENE, J.B.; MILLER, R.; YUZBASİYAN-GURKAN, V. The use of KIT and tryptase expression patterns as prognostic tools for canine cutaneous mast cell tumors. **Veterinary Pathology**, Washington, v. 41, p-371-377, 2004.

KRÖBER, S.M.; HORN, H.P.; RUCK, P.; KÄMMERER, U.; GEISELHART, A.; HANDGRETINGER, R.; GRIESSER, H.; MENKE, D.M.; KAISERLING, E. Mastocytosis: reactive or neoplastic? **Journal of**

- Clinical Pathology**, London, v. 50, p. 525-533, 1997.
- KUMAR, V.; ABBAS, A.K.; FAUSTO, N. **Robbins and Cotran: Pathologic basis of disease**. 7. ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2005. Cap. 6: Doenças da Imunidade, p. 193-268.
- MARUYAMA, H.; SUGIHARA, S.; ISHIHARA, K.; SADA, K.; TSUTSUMI, M.; TSUJIUCHI, T.; NAKAE, D.; KONISHI, Y. Systemic mast cell disease with splenic infarction: a case report. **Pathology International**, Victoria, v. 48, p. 403-411, 1998.
- McNEIL, H.P. The mast cell and inflammation. **Australian and New Zealand Journal of Medicine**, Sydney, v. 26, p. 216-225, 1996.
- METCALFE, D.D.; BARAM, D.; MEKORI, Y.A. Mast cells. **Physiological Reviews**, Baltimore, v. 77, p. 1033-1079, 1997.
- MOTA, I. The mast cell revisited. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 28, p. 895-901, 1995.
- OTT, V.L.; CAMBIER, J.C. Activating and inhibitory signaling in mast cell: new opportunities for therapeutic intervention? **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, Saint Louis, v.106, p. 429-440, 2000.
- OZAKI, K.; YAMAGAMI, T.; NOMURA, K.; NARAMA, I. Mast Cell Tumors of the Gastrointestinal Tract in 39 Dogs. **Veterinary Pathology**, Washington, v. 39, p. 557-564, 2002.
- PULLEY, L.; STANNARD, A.A. Tumor of the skin and soft tissues. In: MOULTON, J. **Tumors in the domestic animals**. 3 ed. Berkeley: University of California, 1990. Cap. 3. p. 23-87.
- RAMÍREZ-ROMERO, R.; BROGDEN, A.; GALLUP, J.M.; DIXON, R.A.F.; ACKERMANN, M.R. Reduction of pulmonary mast cells in areas of acute inflammation in calves with *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* pneumonia. **Journal of Comparative Pathology**, Edinburgh, v. 123, p. 29-35, 2000.
- RECH, R.R.; GRAÇA, D.L.; KOMMERS, G.D.; SALLIS, E.S.V.; RAFFI, M.B.; GARMATZ, S.L. Mastocitoma cutâneo canino. Estudo de 45 casos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 56, p.441-448, 2004.
- ROBBIE-RYAN, M.; BROWN, M.A. The role of mast cells in allergy and autoimmunity. **Current Opinion in Immunology**, London, v. 14, p. 728-733, 2002.
- SCHWARTZ, L.B.; KEPLEY C. Development of markers for human basophils and mast cells. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, Saint Louis, v. 94, p. 1231-1240, 1994.
- SCOTT, M.A.; STOCKHAM, S.L. Basophils and Mast Cells. In: FELDMAN, B.F., ZINKL, J.G., JAIN, N.C. **Schalm's: Veterinary hematology**. 5. ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. Cap. 48. p. 308-317.
- SHIMIZU, H.; NAGAKUI, Y.; TSUCHIYA, K.; HORII, Y. Demonstration of chymotryptic and tryptic activities in mast cells of rodents: comparison of 17 species of the family muridae. **Journal of Comparative Pathology**, Edinburgh, v. 125, p. 76-79, 2001.
- SIMOES, J.P.C.; SCHONING, P. Canine mast cell tumors: a comparison of staining techniques. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Columbia, v. 6, p. 458-465, 1994.
- STREFEZZI, R.F.; XAVIER, J.G.; CATÃO-DIAS, J.L. Morphometry of canine cutaneous mast cell tumors. **Veterinary Pathology**, Washington, v.40, p. 268-275, 2003.
- THAMM, D.H.; VAIL, D.M. Mast cell tumors. In: WITHROW, S.J.; MACEWEN, E.G. **Small Animal Clinical Oncology**. 3. ed. Philadelphia: WB Saunders, 2001. Cap. 16. p 261-282.
- UTHAISANGSOOK, S.; DAY, N.K.; BAHNA, S.L.; GOOD, R.A.; HARAGUCHI, S. Innate immunity and its role against infections. **Annals of Allergy, Asthma & Immunology**, Arlington, v. 88, p. 253-265, 2002.
- WEDEMEYER, J.; GALLI, S.J. Mast cells and basophils in acquired immunity. **British Medical Bulletin**, Edinburgh, v. 56, p. 936-955, 2000.
- WELLE, M.M.; OLIVRY, T.; GRIMM, S.; SUTER, M. Mast cell density and subtypes in the skin of dogs with atopic dermatitis. **Journal of Comparative Pathology**, Edinburgh, v.120, p. 187-197, 1999.

WU, H.; HAYASHI, T.; INOUE, M. Immunohistochemical expression of p27 and p21 in canine cutaneous mast cell tumors and histiocytomas. **Veterinary Pathology**, Washington, v.41, p. 296-299, 2004.

YAMAMOTO, T.; HARTMANN, K.; ECKES, B.; KRIEG, T. Role of stem cell factor and monocyte chemoattractant protein-1 in the interaction between fibroblasts and mast cells in fibrosis. **Journal of**

**Dermatological Science**, v. 26 p. 106-111, 2001.

YONG, L.C.J. The mast cell: origin, morphology, distribution, and function. **Experimental Toxicologic Pathology**, Jena, v. 49, p. 409-424, 1997.

ZAPPULLA, J.P.; AROCK, M.; MARS, L.T.; LIBLAU, R.S. Mast cells: new targets for multiple sclerosis therapy? **Journal of Neuroimmunology**, Amsterdam, v.131, p. 5-20, 2002.