

INTRODUÇÃO

Prefácio

Inicialmente, na introdução deste trabalho serão abordados os aspectos morfo-funcionais dos mastócitos. A seguir, serão detalhadas as etapas da via de desgranulação dos mastócitos através do receptor de alta afinidade. Por fim, será descrito o funcionamento e a atuação da enzima fosfolipase D2.

1. Mastócitos

Os mastócitos são células do tecido conjuntivo que participam dos mecanismos de defesa do organismo e estão envolvidos em reações imunes locais, reações de hipersensibilidade imediata e retardada, reações inflamatórias, eliminação de parasitas e também na imunidade inata contra infecções bacterianas (Wedemeyer *et al.*, 2000; Krishnaswamy *et al.*, 2006) e virais (De Paulis *et al.*, 2000). Os mastócitos estão associados a vasos e nervos e são encontrados, preferencialmente, em áreas de potencial entrada de substâncias e microorganismos (Metcalf *et al.*, 1997; Galli, 2000). Os mastócitos também participam de doenças do sistema nervoso central, como a esclerose múltipla, mal de Alzheimer, doença de Parkinson e síndrome de Guillain-Barré, além de estarem envolvidos em doenças cardiovasculares, como arteriosclerose, miocardites e isquemia miocárdial (Bennoist and Mathis, 2002).

Os mastócitos são derivados de células multipotentes hematopoiéticas e expressam CD13, CD34 e CD117 (Metcalf *et al.*, 1997; Gilfillan and Tkaczyk, 2006). Os precursores de mastócitos são AA4 + / BGD6 + (Jamur *et al.*, 2005) e se originam na medula óssea. Os mastócitos migram através do sangue para os tecidos periféricos (Jamur *et al.*, 1998) onde completam seu processo de amadurecimento sob influência de fatores do microambiente

tecidual gerando o fenótipo do mastócito maduro (Kitamura *et al.*, 1985; Kitamura *et al.*, 1987; Huff and Justus, 1988; Kitamura *et al.*, 1993; Yong, 1997; Jamur *et al.*, 2001; Galli *et al.*, 2005). Os mastócitos maduros são alongados quando estão aderidos nos tecidos conjuntivos, enquanto os isolados da cavidade peritoneal apresentam-se arredondados. Os mastócitos apresentam o citoplasma repleto de grânulos que se coram metacromaticamente por corantes básicos, como o azul de toluidina (Metcalf *et al.*, 1997). Ultraestruturalmente, os mastócitos apresentam o citoplasma repleto de grânulos eletrondensos, microvilos finos na membrana plasmática, núcleo grande, central e arredondado, com dois ou mais nucléolos (Combs, 1965; Dvorak *et al.*, 1994; Metcalf *et al.*, 1997; Yong, 1997; Dvorak, 2005).

Os mastócitos são considerados uma das maiores fontes de mediadores químicos no organismo, por serem responsáveis pela produção e liberação de inúmeros produtos farmacologicamente ativos, tais como: *a) fatores pré-formados*: substâncias como a histamina, heparina, β -hexosaminidase, proteoglicanas, proteases neutras e algumas citocinas que participam da imunidade, da hematopoiese, do remodelamento dos tecidos e de diversos processos biológicos. Dentre esses fatores estão também as interleucinas IL-8 e IL-16 e alguns fatores como o TNF- α (*Tumor Necrosis Factor*), b-FGF (*Fibroblast Growth Factor*), VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*), TGF- β (*Transforming Growth Factor Beta*) dentre outros, além do próprio SCF (*Stem Cell Factor*) que é liberado sem perder seu efeito biológico sobre os mastócitos; *b) fatores neo-formados*: alguns são derivados do metabolismo do ácido araquidônico, como a PGD₂ (prostaglandina D₂), leucotrienos como o LTC₄ e LTB₄, PAF (*Platelet Activating Factor*), e tromboxanas; *c) fatores neo-sintetizados*: a síntese dos mesmos ocorre em 8-12 horas após a desgranulação, dentre eles destacam-se as interleucinas IL-3, IL-4, IL-5 e IL-6 e o fator estimulador de colônias granulócito/macrófago (GM-CSF) (Yong, 1997; Wedemeyer and Galli, 2000; Galli and Nakae, 2003; Rivera and Gilfillan, 2006; Metcalf *et al.*, 1997; Crivellato *et al.*, 2004).

2. Ativação dos mastócitos mediada pelo FcεRI

Os mastócitos possuem em sua superfície numerosos receptores de alta afinidade para a IgE (FcεRI), que são membros da família dos receptores multicadeia de reconhecimento imune (MIRRs) (Shimizu *et al.*, 1988; Metzger, 1992). O FcεRI é um complexo tetramérico não-covalente, composto por uma subunidade α, responsável pela interação com a porção Fc das IgEs, mas esta ligação não é capaz de ativar os mastócitos; uma subunidade β e duas subunidades γ unidas por pontes dissulfeto (Figura 1) (Metzger, 1992). As cadeias β e γ possuem em seu domínio citoplasmático dois resíduos de tirosina localizados em uma região denominada ITAM (*Immunoreceptor Tyrosine-based Activation Motif*). Os receptores desempenham papéis importantes na fisiologia dos mastócitos podendo atuar na sua ativação, maturação e proliferação (Siraganian, 2003). A ativação dos mastócitos ocorre quando antígenos multivalentes ligam-se à porção Fab das IgEs que já estão ligadas no receptor, promovendo uma ligação cruzada das IgEs e o inter cruzamento dos receptores (Figura 2) (Metzger, 1992). Este inter cruzamento desencadeia uma série de eventos bioquímicos que culmina em uma cascata de sinalização intracelular que resulta na desgranulação dos mastócitos (Benhamou and Siraganian, 1992; Beaven and Baumgartner, 1996; Metcalfe *et al.*, 1997; Xu *et al.*, 1998; Wilson *et al.*, 2000; Siraganian, 2003). Além da desgranulação via FcεRI agentes como o composto 48/80 podem desgranular mastócitos e liberar histamina. Esta substância não tem efeito citotóxico e mantém a integridade da membrana plasmática dos mastócitos (Bloom and Haegermark, 1965).

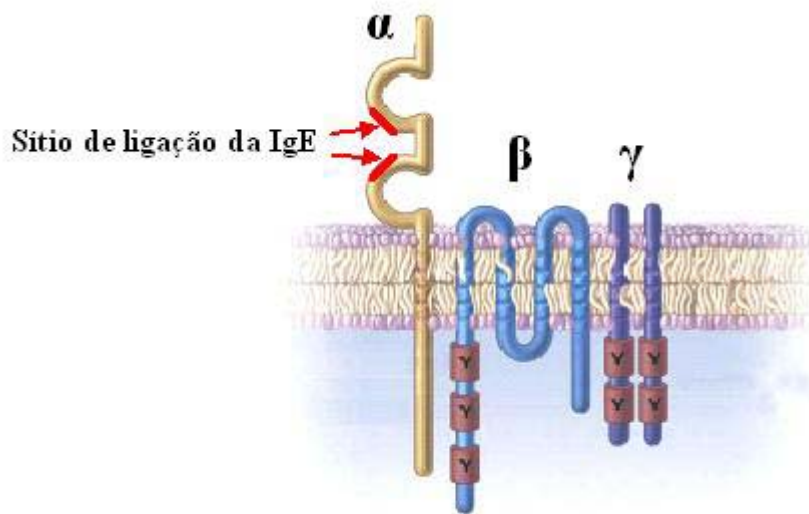


Figura 1. Estrutura do receptor de alta afinidade para IgE (FcεRI). A subunidade α , responsável pelas regiões de ligação da porção Fc da IgE (setas vermelhas); a subunidade β , possui quatro porções transmembrânicas com domínios intra e extracelular e as subunidades γ , unidas por ponte dissulfeto. Nas caudas citosólicas das subunidades β e γ notam-se a presença dos ITAMs, onde Y representa tirosinas fosforiláveis (Modificado de Gilfillan and Tkaczyk, 2006; Rivera and Gilfillan, 2006).

3. Liberação dos mediadores

A desgranulação dos mastócitos ocorre em microdomínios especializados da membrana plasmática denominados de *lipid rafts* que são caracterizados pela presença de colesterol, esfingomielina, gangliosídeos, âncoras de GPI e proteínas como a LAT (Holowka *et al.*, 2000). O FcεRI não possui atividade catalítica intrínseca, portanto, a primeira etapa da transdução do sinal é a ativação da Lyn, uma proteína tirosina quinase (PTK), pertencente à família das Src, constitutivamente associada à subunidade β do receptor inativo (Benhamou and Siraganian, 1992). Após a dimerização do FcεRI ocorre a ativação transiente da Lyn que resulta na fosforilação das ITAMs. Em seguida, outra PTK é ativada, a Syk, e vai se ligar aos ITAMs fosforilados do receptor. Após esse evento ocorre a ativação e fosforilação de proteínas como a proteína G (GP), a fosfolipase C γ (PLC γ) e a LAT. A PLC γ fosforilada

hidrolisa fosfatidilinositol 4,5 bifosfato (PI4,5P₂) produzindo inositol-1, 4, 5-trifosfato (IP₃) e o diacilglicerol (DAG). Esses últimos são mensageiros secundários que liberam Ca²⁺ a partir dos reservatórios intracelulares e ativam a proteína quinase C (PKC), respectivamente (Metcalf *et al.*, 1997; Siraganian, 2003). Estes eventos resultam na liberação dos fatores pré-formados pelos mastócitos (Figura 2).

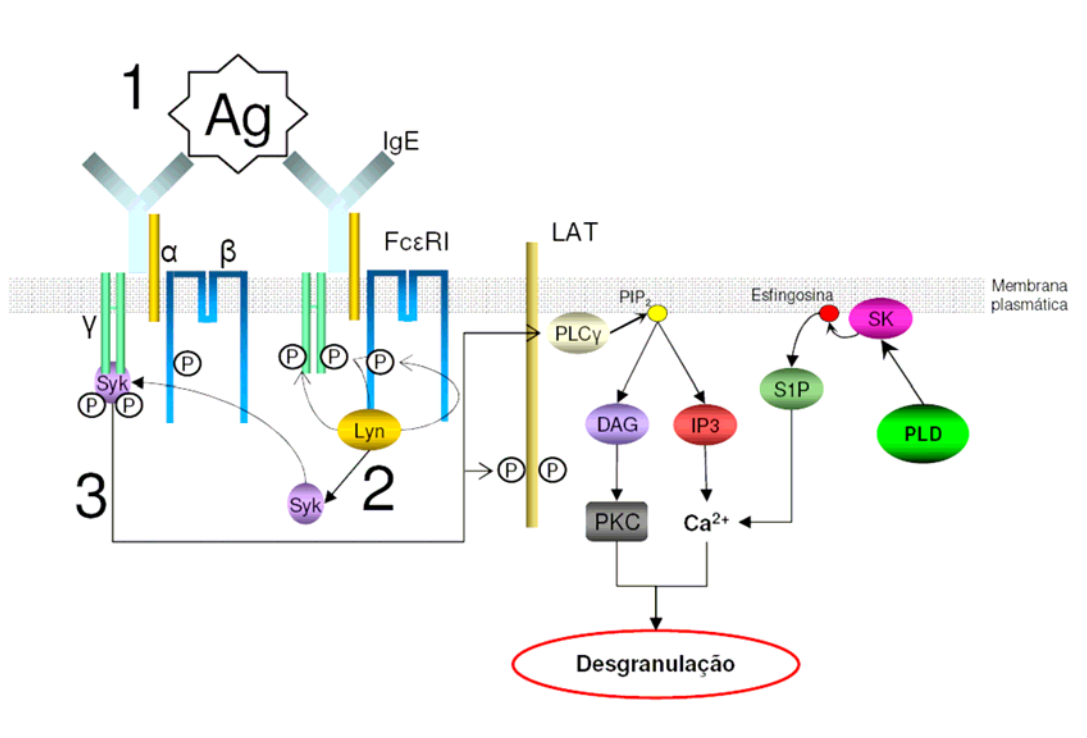


Figura 2. Via de sinalização mediada pelo FcεRI. A ativação de mastócitos é iniciada com a ligação cruzada de receptores FcεRIs por meio da interação do antígeno multivalente (Ag) com as IgEs ligadas ao domínio extracelular da cadeia α do receptor (1). Esta interação resulta na fosforilação dos resíduos de tirosina nos ITAMs das subunidades β e γ pela PTK Lyn (2). Diversas Syk citoplasmáticas são recrutadas e fosforiladas pela subunidade γ, tornando-se ativa e levando a fosforilação de outras proteínas, como a LAT e PLCγ (3). A PLCγ quando fosforilada hidrolisa, na membrana plasmática, PI4,5P₂, formando IP₃ e DAG - mensageiros secundários que levam à liberação dos fatores pré-formados pelo mastócito. Outra proteína importante nesse processo é a PLD que, ao regular a atividade de SK, leva à síntese de S1P que auxilia no aumento do Ca²⁺ citosólico. Esquema construído a partir de dados obtidos em Siraganian, 2003; Rivera and Gilfillan, 2006.

A esfingosina quinase (SK) citosólica também é recrutada para a membrana plasmática após o estímulo dos mastócitos. A SK produz, a partir de esfingosina de membrana, o mensageiro secundário esfingosina-1-fosfato (S1P) que participa do aumento de

Ca^{2+} intracelular levando ao sinal de desgranulação. Estudos utilizando oligonucleotídeos *antisense* para SK resultam na inibição da desgranulação (Melendez and Khaw, 2002; Siraganian, 2003). A atividade de esfingosina quinase (SK) é regulada pela fosfolipase D (PLD), que por sua vez é regulado pela PKC e a fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K). A PLD requer ainda PI4,5P_2 para sua atividade (Frohman and Morris, 1999; Chen and Exton, 2004; Gilfillan and Tkaczyk, 2006).

A dimerização dos receptores também leva a ativação de uma via de sinalização dependente da quinase Fyn, a qual coopera com a sinalização gerada pela Syk. A Fyn leva a fosforilação de tirosinas da proteína Gab2 (proteína 2 tipo ligante associada à Grb2), essa se liga à subunidade p85 da PI3K, translocando-se para a membrana plasmática e catalisando a conversão do PI4,5P_2 em PIP_3 (fosfatidilinositol-3, 4, 5 trifosfato). O PIP_3 irá recrutar para a membrana plasmática proteínas com domínios PH (domínio de homologia à *pleckstrin*), tais como Btk, $\text{PLC-}\gamma 1$ e $\text{PLC-}\gamma 2$, que são essenciais para a subsequente propagação da via sinalizadora para desgranulação (Parravicini *et al.*, 2002).

A fosforilação da LAT resulta na formação do *lipid raft* que serve de ligação para inúmeras proteínas ativadas, como enzimas e moléculas adaptadoras, Shc e SOS. Essas proteínas estimulam pequenas GTPases, como Rac, Ras e Rho, que por sua vez, levarão a ativação da fosfolipase A_2 (Figura 3) (Siraganian, 2003; Rivera and Gilfillan, 2006). Com a ativação da fosfolipase A_2 , os fatores neo-formados são produzidos na membrana plasmática e liberados. A proteína Syk ativada recruta e fosforila a proteína Vav que estimula pequenas GTPases como Rac a ativarem a proteína JNK que resulta na ativação da via da p38 MAP-quinase. As MAP-quinases atuam por meio da fosforilação de fatores de transcrição que induzem a produção de citocinas e fatores de crescimento, os que serão sintetizados e liberados cerca de 8 a 12 horas após a ativação dos mastócitos e são chamados de fatores neo-sintetizados (Siraganian, 2003; Rivera and Gilfillan, 2006).

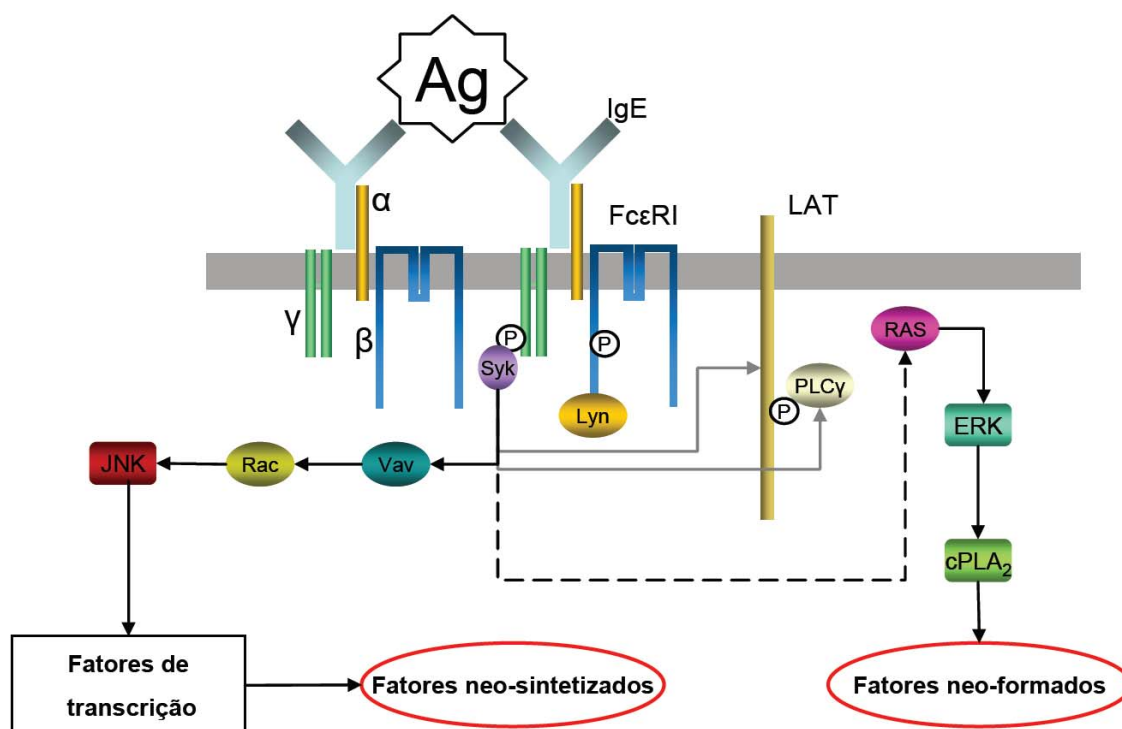


Figura 3. Via de sinalização mediada pelo FcεRI destacando-se a produção dos fatores neo-formados e neo-sintetizados. Após a fosforilação e ativação de outras enzimas e adaptadores, incluindo Vav, ocorre o estímulo de pequenas GTPases, como a RAS que leva a ativação de JNK e ERK. A JNK irá fosforilar os fatores de transcrição que induzem a síntese de novas citocinas (fatores neo-sintetizados) enquanto a ERK irá ativar a fosfolipase citoplasmática A₂ (cPLA₂) para a liberação do ácido araquidônico (fatores neo-formados). Esquema construído a partir de dados obtidos em Siraganian, 2003; Rivera and Gilfillan, 2006.

4. Fosfolipase D

A fosfolipase D (PLD) é uma enzima amplamente encontrada em bactérias, fungos, plantas e animais. A atividade da PLD já foi identificada na maioria das células dos mamíferos onde participa de inúmeros processos celulares, como ativação de quinases (PI3K), mobilização de cálcio, tráfego de vesículas, exocitose, endocitose, organização do citoesqueleto de actina, meiose, mitose e sinalização celular (Exton, 2002; Foster and Xu, 2003; Jenkins and Frohman, 2005; Gomez-Cambronero *et al.*, 2007). A ativação da PLD em

mamíferos pode ser desencadeada por hormônios, neurotransmissores, fatores de crescimento, antígenos e citocinas (Liscovitch *et al.*, 2000; Exton, 2002).

A ação enzimática da fosfolipase D leva à hidrólise de ligações fosfodiésteres da fosfatidilcolina (PC) resultando na formação de ácido fosfatídico (PA) e colina (Figura 4) (Liscovitch *et al.*, 2000). Além dessa reação pode ocorrer uma reação de transfosfatidilação, onde um álcool primário é utilizado, preferencialmente, no lugar da água, formando um fosfatidilálcool. Somente a PLD realiza essa reação, assim, o fosfatidilálcool é usado para quantificar a atividade dessa enzima (Yang *et al.*, 1967; Morris *et al.*, 1997).

O PA é altamente regulado nas células, e pode ser convertido em diacilglicerol (DAG) ou ácido lisofosfatídico (LPA), pelas enzimas fosfolipases de PA e fosfolipase A, respectivamente (Sciorra *et al.*, 1999; Waggoner *et al.*, 1999). O DAG por sua vez pode ser reconvertido a PA por meio de sua fosforilação pela quinase do diacilglicerol. O LPA pode também formar PA por meio da aciltransferases do ácido lisofosfatídico (Exton, 2002; McDermott *et al.*, 2004; Jenkins and Frohman, 2005). Estudos sugerem que o PA é um importante mensageiro secundário. Desta forma, PA já foi descrito como ativador de quinases sinalizadoras importantes como o fosfatidilinositol 4-fosfato 5-quinase, o mTOR (mammalian target of rapamycin) quinase, a esfingosina quinase 1 e a proteína quinase Raf-1. O PA ainda participa de processos de tráfego vesicular, incluindo transporte do aparelho de Golgi, endocitose e exocitose (Jones *et al.*, 1999). O PA tem sido descrito como um lipídeo fusogênico que atua na fusão e fissão de membranas (Kooijman *et al.*, 2003; Cazzolli *et al.*, 2006). Estes processos demandam um dobramento e uma reorganização transitória de membranas bilipídicas (Lentz *et al.*, 2000) que não ocorrem espontaneamente, mas são controlados por proteínas específicas e demandam muita energia. Acredita-se que estas proteínas não atuem sozinhas, mas com o auxílio de certos lipídios de membrana, como fosfoinositóis (Cremona and Camili, 2001), diacilglicerol (Bankaitis, 2002; Baron and

Malhotra, 2002) e o PA (Bankaitis, 2002; Weigert *et al.*, 1999; Roth *et al.*, 1999; Siddhanta and Shields, 1998). Esses lipídeos podem atuar de dois modos: (i) permitindo uma interação muito próxima em locais específicos entre proteínas; e (ii) facilitando a curvatura das membranas, o que diminui a energia requerida para a fusão ou a fissão. Acredita-se que o PA facilite a curvatura da membrana principalmente pelas suas características biofísicas como carga negativa de sua cabeça hidrofílica, alta afinidade para cátions divalentes e uma alta propensão para formar pontes de hidrogênio (Demel *et al.*, 1992; Boggs, 1987).

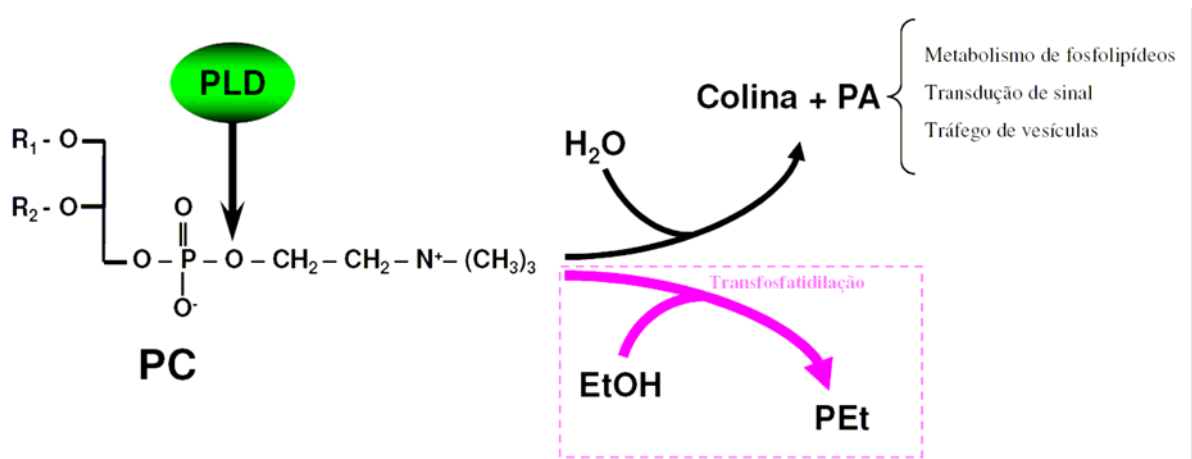


Figura 4. Representação das reações catalisadas pela PLD. A PLD cliva a ligação fosfodiéster da fosfatidilcolina (PC), resultando na produção de ácido fosfatídico (PA) e colina. PA pode ser metabolizado para formar lipídeos, como diacilglicerol e ácido lisofosfatídico, que atuam como mensageiros secundários. Na presença de álcool primário ocorre uma reação de transfosfatidilação, onde o álcool substitui a água por competição, levando desse modo a formação de fosfatidiletanol (seta rosa). Essa reação ocorre em detrimento da produção de PA. Esquema construído a partir de dados obtidos em Liscovitch *et al.*, 2000; Cazzolli *et al.*, 2006.

4.1. Estrutura da PLD

Existem duas isoformas da enzima PLD em mamíferos, a PLD1 com 1074 resíduos de aminoácidos e PLD2 com 933 resíduos de aminoácidos e peso molecular de 106 kDa (Figura 5). Apesar de existir cerca de 50% de homologia entre os genes das isoformas da PLD, há diferenças na regulação, atividade e distribuição da PLD1 e PLD2 (Hammond *et al.*, 1995; Colley *et al.*, 1997). A PLD é caracterizada por 4 regiões conservadas (I - IV). As regiões II e

IV possuem o motivo HKD (histidina, lisina e ácido aspártico), que é responsável pela atividade catalítica da PLD (Xie *et al.*, 2000). Outros domínios conservados da PLD são o domínio PH, o de homologia phox (PX) e a região de ligação com o PI4,5P₂ (Jenkins and Frohman, 2005).

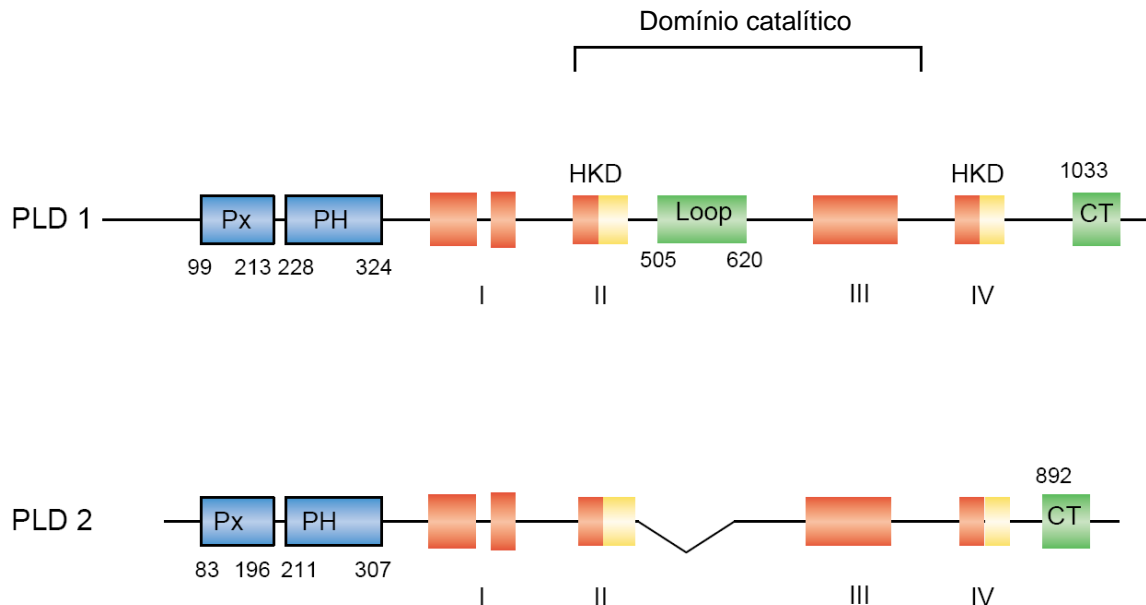


Figura 5. Comparação dos domínios estruturais da enzima PLD1 e PLD2 de mamífero. As regiões I, II, III e IV possuem seqüências conservadas entre as PLDs. O motivo HKD está representado em amarelo e é responsável pela atividade catalítica da enzima. PX, domínio phox; PH domínio de homologia pleckstrina; CT, região carboxi-terminal, essencial para a atividade enzimática. Esquema modificado de Freyberg *et al.*, 2003.

4.2. Localização da PLD2

A PLD é amplamente expressa nos tecidos dos mamíferos, apesar dos níveis de expressão variarem dramaticamente em tecidos e tipos celulares diferentes. Por exemplo, em células HL-60 (*human promyelocytic leukemia cells*) e células pancreáticas- β somente PLD1 é expressa. Já em células PC12K (*rat pheochromocytoma*) somente a PLD2 é expressa. Muitas células expressam ambas as isoformas sugerindo que as isoformas PLD1 e PLD2 possuem papéis divergentes (Meier *et al.*, 1999). A expressão de mRNA de PLD2 nos seres

humanos foi encontrada em abundância na placenta, no timo, na próstata, nos ovários, no útero, na tiróide, na medula espinhal, na traquéia e, com menor expressão, no fígado, no músculo esquelético, no testículo e no cérebro (Saqib and Wakelam, 1997; Lopez *et al.*, 1998; Steed *et al.*, 1998; Liscovitch *et al.*, 1999). Estudos sobre a localização subcelular da PLD1 e PLD2 tem sido inconsistentes. Quantificações da atividade bioquímica por meio do fracionamento subcelular revelaram que a PLD pode ser encontrada em muitas membranas incluindo nas do retículo endoplasmático, no aparelho de Golgi, nas vesículas de transporte e de secreção, na membrana plasmática e no envelope nuclear (Liscovitch *et al.*, 1999). Análises imunocitoquímicas descrevem a localização da PLD2 como associada à membrana plasmática, o citosol, vesículas membranosas e aparelho de Golgi (Colley *et al.*, 1997; Honda *et al.*, 1999; Du *et al.*, 2004; Freyberg *et al.*, 2002). Ainda, através de microscopia de fluorescência verificou-se que a PLD2 quando super expressa em células HeLa não estimuladas, se localiza no citosol e na membrana plasmática. Quando as células HeLa são estimuladas com EGF, a PLD2 transloca-se para ondulações na membrana plasmática. Essa translocação foi transiente e, cessado o estímulo, a PLD2 se redistribuiu (Honda *et al.*, 1999). Um estudo utilizando PLD1-GFP em células RBL-2H3 mostra que a enzima pode ser translocada de grânulos secretores para membrana plasmática (Brown *et al.*, 1998).

4.3. Regulação da PLD2

Com relação à regulação da atividade da enzima PLD um estudo com células COS-7 transfectadas de modo transitório para a super expressão de PLD2 demonstrou que esta isoforma possui atividade basal maior em comparação com células COS-7 transfectadas de modo transitório para a super expressão de PLD1. Além disso, a presença de fatores que ativam a PLD1, como pequenas GTPases ou PKC α parece não afetar sua atividade, sugerindo assim que a PLD2 é constitutivamente funcional (Colley *et al.*, 1997). Existem evidências que

a PLD2 pode ser regulada por fatores inibitórios localizados no citosol ou na membrana plasmática como as proteínas citoplasmáticas α - e β - sinucleína. A função das sinucleínas não é conhecida (Jenco *et al.*, 1998). O PI4,5P₂ é um cofator essencial para a PLD sendo que essa interação é necessária para sua atividade (Liscovitch *et al.*, 1994; Colley *et al.*, 1997). Tanto a PLD1 quanto a PLD2 são palmitoiladas e fosforiladas nos resíduos de serina e treonina. Essas modificações não são necessárias para a atividade catalítica, mas permitem associação com membranas (Exton, 2002).

4.4. O papel da PLD2 no aparelho de Golgi

Em células endócrinas a estrutura do aparelho de Golgi parece ser mantida pelo PA produzido diretamente da PLD2 (Siddhanta *et al.*, 2000; Sweeney *et al.*, 2002). O PA pode alterar a composição da membrana em sítios específicos para facilitar a liberação de vesículas (Schmidt *et al.*, 1999). A PLD participa ainda do recrutamento de PKC para o aparelho de Golgi que, por sua vez, é dependente de DAG presente na organela, proveniente do PA produzido pela PLD. Dados da literatura mostram que a PKC estimula o brotamento de vesículas a partir das cisternas trans do aparelho de Golgi (Baron and Malhotra, 2002).

4.5. O papel da PLD2 na sinalização das células RBL-2H3

As células da linhagem de mastócitos RBL-2H3 possuem ambas as isoformas de PLD. Estas isoformas são ativadas quando o mastócito é estimulado via Fc ϵ RI e são necessárias para desgranulação mediada pelo antígeno e para a produção de fatores neo-formados (Choi *et al.*, 2002; Peng and Beaven, 2005). A fosforilação da PLD2 pelas proteínas quinases Fyn e Fgr é essencial para a desgranulação de mastócitos RBL-2H3 (Choi *et al.*, 2004). A PLD2 também pode se associar às proteínas Syk na membrana plasmática de células RBL-2H3, sendo que a formação desse complexo ocorre independentemente da atividade catalítica de

PLD2. Esta associação parece ser crítica na desgranulação dos mastócitos (Lee *et al.*, 2006). A PLD pode ainda levar a ativação da PKC por meio do fornecimento de DAG (Peng and Beaven, 2005). A PLD2 atua na fusão dependente de cálcio dos grânulos secretores com a membrana plasmática (Choi *et al.*, 2002). A produção de PA pela PLD participa da reorganização do citoesqueleto de actina durante o estímulo desencadeado por um antígeno. Estudos mostram que durante o estímulo do mastócito os níveis de PI4,5P₂ aumentam, e o PA auxilia na produção deste inositol ao estimular a PIP5K (Apgar, 1995; O'Lunaigh *et al.*, 2002). A PLD contribui com o influxo de cálcio necessário para a desgranulação por meio da ativação da SK1, que por sua vez cliva esfingosina produzindo S1P (Figura 2) (Choi *et al.*, 1996; Melendez and Khaw, 2002).

O nosso laboratório tem estudado células RBL-2H3 transfectadas para a super expressão das isoformas PLD1 e PLD2, catalítica ativa e catalítica inativa. Estes estudos demonstraram que as isoformas são ativadas após a sinalização para desgranulação via FcεRI, sendo que a PLD1 apresenta maior atividade. No entanto, a PLD1 tem um papel na regulação negativa dessa desgranulação (Hitomi *et al.*, 2004). Resultados preliminares realizados em nosso laboratório sugerem que a isoforma PLD1 participa na formação de grânulos secretores e na sua movimentação durante a desgranulação. Enquanto a isoforma PLD2 tem localização no complexo de Golgi e atua na manutenção da estrutura celular dos mastócito (Nicoletti *et al.*, 2007).

No presente trabalho o papel da PLD2 na via secretora de células da linhagem de mastócitos RBL-2H3 transfectadas para a super expressão da isoforma PLD2 nas formas catalítica ativa e inativa foi investigado. O estudo dessa isoforma contribuirá para um maior entendimento do processo de regulação dos mecanismos de liberação dos mediadores químicos produzidos pelos mastócitos. Estes achados poderão levar a novas estratégias

terapêuticas para controlar a ativação destas células durante os processos alérgicos e inflamatórios.