

GABRIELA DE ALMEIDA FERREIRA

**IDENTIFICAÇÃO DE PRECURSORES DE MASTÓCITOS
NO SANGUE DURANTE O PROCESSO DE MIGRAÇÃO
PARA O REPOVOAMENTO DA CAVIDADE PERITONEAL
DE RATO**

Monografia apresentada à Coordenação do
Curso de Ciências Biológicas do Setor de
Ciências Biológicas da Universidade
Federal do Paraná, para a obtenção do grau
de Bacharelado em Ciências Biológicas.
Orientadora: Prof^ª. Maria Helena da
Cunha Pimentel de Meira Guerreiro

CURITIBA
1998

À

Maria Helena da Cunha Pimentel de Meira
Guerrero, pela colaboração e atenção a este
trabalho.

À

Profa . Dra. Maria Célia Jamur
pelo incentivo ao meu desenvolvimento
científico. Alguém brilhante de quem ganhei
o amor pela pesquisa, para ampliar meus
conhecimentos contribuindo com o avanço
da humanidade, e o amor às relações
humanas, devido a amizade e momentos de
alegria.

À

Anna Carolina, mãe e amiga, exemplo dos
exemplos, pelo apoio e orientação na
distância durante meus estudos

José, pai e mestre, alicerce firme durante
meus estudos

Daniel e Cristiano, irmãos e companheiros,
pela alegria de nossa convivência

AGADECIMENTOS

À Ana Cristina Grodzki, companheira de experimentos, pelos conhecimentos transmitidos e pela amizade, risos e alegrias compartilhadas.

Às amigas e super companheiras de pesquisa e bagunça do laboratório de Biologia dos Mastócitos: Andrea Novais Moreno, Luciana de Fátima Chaves Mello, Roberta Feijó Ortolani, Fernanda dos Santos Hirooka, Eliana Campagnolo. Foram momentos de alegria e aprendizado, onde cada uma deixou uma pequena parte de si em tudo que vivemos juntas.

À companheira e amiga de todas as horas, desde o início da graduação, Carolina Schneider França.

Ao Prof. Manoel Carlos Toth Quintilian, que despertou a primeira paixão pela ciência durante suas aulas na graduação.

À Claudia Feijó Ortolani-Machado, minha primeira orientadora, onde o amor pela ciência começou a desaflorescer.

À Enilze Maria de Souza Fonseca Ribeiro, cuja orientação contribuiu não só para minha formação, como também em minha opção junto à ciência.

Ao amigo Luiz Fernando Fávaro, pelo carinho e alegria de sempre.

Aos professores de Biologia Celular, Marco Antônio Randi e Célia Regina Franco, pelos ensinamentos transmitidos. E à Célia, pelo apoio em minha escolha na área de pesquisa (Biologia Celular).

Aos amigos do CAEB e todos os estudantes de Biologia, pelo companheirismo e alegria.

A todos os professores da graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, pelos conhecimentos transmitidos.

LISTA DE FIGURAS

1 – Mastócito isolado da medula óssea de rato com mAb BGD6 conjugado a esferas magnéticas ----- 9

2 – Precursores de mastócitos do sangue de rato em diferentes estágio de maturação imunomarcados com mAb BGD6, após o isolamento com as esferas magnéticas conjugadas ao mAb BGD6, 12 horas após a depleção da cavidade peritoneal ----- 9

3 – Precursores de mastócitos do sangue de rato em diferentes estágio de maturação imunomarcados com mAb BGD6, após o isolamento com as esferas magnéticas conjugadas ao mAb BGD6, 48 horas após a depleção da cavidade peritoneal ----- 9

SUMÁRIO

Lista de figuras -----	vii
Resumo -----	ix
I – Introdução -----	1
II – Objetivos -----	4
III – Material e Métodos -----	5
IV – Resultados -----	7
V – Figuras -----	9
VI – Discussão -----	12
VII – Conclusão -----	13
Anexo -----	10
Referências Bibliográficas -----	14

RESUMO:

Os mastócitos são células originadas na medula óssea e seus precursores migram através da corrente sanguínea para o tecido conjuntivo, onde se diferenciam. São células importantes devido à atuação em reações alérgicas e processos inflamatórios. A injeção intraperitoneal de água destilada leva à depleção dos mastócitos da cavidade peritoneal do rato, estimulando a migração de células da linhagem dos mastócitos para repovoá-la. Com a utilização do anticorpo monoclonal BGD6 (mAb BGD6) conjugado a esferas magnéticas foi possível isolar as células indiferenciadas presentes no sangue, pertencentes à linhagem dos mastócitos. O mAb BGD6 reconhece uma proteína de superfície específica de mastócitos. Em ratos controle não foram encontrados mastócitos ligados às esferas magnéticas. Após 12 horas da depleção da cavidade peritoneal foram encontradas, em média, $0,59 \times 10^{10}$ células totais, com 0,000043 % de mastócitos correspondentes. Após 24 horas da depleção da cavidade peritoneal foram encontrados $0,687 \times 10^{10}$ células e 0,0000785 % de mastócitos. Após 48 horas, esse número decresceu para 0,000021 %, de um total de $7,075 \times 10^{10}$ células totais do sangue. Devido a sua alta especificidade, o mAb BGD6 permitiu isolar uma população pequena de precursores de mastócitos que circulam na corrente sanguínea. Estes resultados demonstram a migração de células indiferenciadas de mastócitos, durante o repovoamento da cavidade peritoneal do rato.

I. INTRODUÇÃO

Mastócitos são células presentes no tecido conjuntivo, identificadas pelos grânulos metacromáticos que possuem (ERLICH,1877). A metacromasia dos grânulos ocorre devido à grande concentração de heparina (JORPES et al., 1937). Proteases neutras e fatores quimiotáticos também estão presentes nos grânulos (SCHWARTZ & KEPLEY, 1994). Essas substâncias são de grande importância farmacológica por participarem dos processos imunológicos das reações inflamatórias (GALLI et al.,1984; SIRAGANIAN,1988). Em sua superfície, os mastócitos apresentam receptores de alta afinidade para a imunoglobulina E (IgE) (ISHIZAKA & ISHIZAKA, 1984). A IgE ligada ao receptor foi demonstrada imunocitoquimicamente por CHEN e ENERBACK (1994), utilizando um anticorpo anti IgE conjugado ao ouro coloidal. Os autores observaram que em mastócitos pré-fixados, as partículas de ouro coloidal estavam homogeneamente distribuídas na superfície celular. É através do complexo IgE-receptor, interação entre antígenos multivalentes e outras moléculas que promovem o inter cruzamento dos receptores, que desencadeia eventos bioquímicos levando à liberação de histamina, metabólicos do ácido aracdônico e citocinas, participando assim, dos processos imunológicos e das reações alérgicas.

Estudos *in vivo* e *in vitro* mostram que os mastócitos, mesmo sendo considerados células próprias do tecido conjuntivo, são originados dos tecidos hematopoiéticos (KITAMURA et al.,1981; YUEN et al.,1988; GALLI et al.,

1990). No animal adulto, a medula óssea é a principal fonte de precursores de mastócitos (SONODA et al.,1986; GINSBURG et al.,1982). Apesar dos mastócitos e seus precursores migrarem livremente (SMITH & Wets.,1996), eles raramente são vistos no sangue periférico. Segundo CSABA et al.(1969), baixo número de mastócitos granulados podem ser encontrados no sangue periférico de rato. Precursores de mastócitos têm sido reconhecidos no sangue de ratos (ZUCKER-FRANKLIN et al.,1981) e humanos (DENBURG et al., 1983) seguindo cultura em “ágar soft”.

A relação dos mastócitos com as células hematopoiéticas foi investigada por KITAMURA et al.(1981); SHARADER et al.(1981) e NAKAHATA et al.(1982). Suas pesquisas sugerem que os mastócitos são uma progênie da célula fonte do tecido hematopoiético multipotente. A diferença dos mastócitos para as demais células que se originam do tecido hematopoiético (como eritrócitos e granulócitos), está no fato que precursores de mastócitos migram pela corrente sangüínea (ZUCKER-FRANKLIN et al.,1981; SONODA et al.,1984), ao contrário das outras células do sangue, e completam sua maturação quando chegam ao tecido conjuntivo (HATANAKA et al.,1979; KITAMURA et al.,1979). As demais células deixam o tecido hematopoiético após completar sua diferenciação.

O estudo de repovoamento e maturação dos mastócitos do lavado peritoneal após desaparecimento destas células por injeção intraperitoneal de água destilada foi realizado por MENDONÇA et al.(1986); JAMUR & VUGMAN (1986); GRECA et al.(1992) e NIEDERHEITMANN & JAMUR (1993). JAMUR et al.(1986) realizaram a caracterização destas células através de estudos morfológicos utilizando histofluorescência, histoquímica e citoquímica ultraestrutural. No entanto, a caracterização de precursores de

mastócitos ainda indiferenciados, desprovidos de grânulos, só se tornou possível com a utilização de marcadores específicos. Em estudos anteriores, realizados em nosso laboratório, conseguimos imunomarcas mastócitos na medula óssea nos seus diferentes estágios de maturação utilizando um anticorpo monoclonal anti-gangliosídeo específico para mastócitos, o mAb AA4 (OLIVER et al.,1992). Para tal, foi necessário utilizar a fixação por microondas associada a baixas concentrações de glutaraldeído para preservar a antigenicidade das células (JAMUR et al.,1995a). Assim, foi possível classificar as células imunomarcadas em : bem imaturas, imaturas, maduras (JAMUR et al.,1995b; GRODZKI et al.,1996).

HAMAWY et al.(1992) estudaram a inibição da ligação da IgE ao receptor em células RBL-2H3, utilizando o anticorpo monoclonal BGD6. O mAb BGD6 também se liga exclusivamente a proteínas encontradas na superfície da RBL-2H3 e de mastócitos. Estes anticorpos monoclonais, por serem específicos para mastócitos, foram utilizados na identificação de progenitores de mastócitos na medula óssea(JAMUR et al.,1996). Com o mAb BGD6 conjugado a esferas magnéticas, foi possível isolar uma população de células indiferenciadas, que quando imunomarcadas com o anticorpo anti-CD34, confirmam pertencer à linhagem dos mastócitos(VALENT,1994).

MORENO et al.(1997) observaram que há diminuição do número de células da linhagem de mastócitos da medula óssea de rato durante o repovoamento da cavidade peritoneal de ratos após depleção por injeção intraperitoneal de água destilada.

A utilização do mAb BGD6 conjugado a esferas magnéticas “tosyl-ativadas”, torna possível isolar a população de mastócitos da

medula óssea (JAMUR et al.,1996).Esse anticorpo monoclonal foi utilizado neste trabalho para a investigação de precursores de mastócitos no sangue, em migração, durante o repovoamento da cavidade peritoneal, após depleção com água destilada.

II. OBJETIVO

Investigar a presença de células precursoras de mastócitos no sangue circulante, que migram da medula óssea, durante o repovoamento da cavidade peritoneal do rato, após depleção por injeção intraperitoneal de água destilada.

Identificar e caracterizar estas células através da utilização de métodos imunocitoquímicos.

III. MATERIAL E MÉTODOS

A. Obtenção do material:

Foram utilizados ratos Wistars machos, pesando em torno de 150 gramas. O sangue foi colhido, por punção cardíaca, 24 e 48 horas após depleção da cavidade peritoneal por injeção intraperitoneal de 20 ml de água destilada. A punção cardíaca foi realizada utilizando seringa de vidro previamente heparinizada. O sangue coletado foi diluído em PBS+BSA 2% e ressuspendido com pipeta Pasteur.

Como controle foram usados animais não submetidos ao tratamento, isto é, que não foram injetados com água destilada.

B. Conjugação:

O mAb BGD6 foi conjugado a esferas magnéticas numa concentração de 200 μ g/ml a 37°C. Após 10 minutos de incubação foi adicionado BSA 0,5% (soro albumina bovina) para auxiliar na orientação dos anticorpos durante o acoplamento. Também foi utilizado o tampão Tris para bloquear os radicais tosil livres. As esferas magnéticas conjugadas ao mAb BGD6 foram ressuspendidas em PBS (tampão fosfato) com BSA 0,1% e estocadas a 4°C a uma concentração final de 4x 10⁸ esferas/ml (30 mg/ml).

C. Imunofluorescência:

As células isoladas através da incubação com as esferas magnéticas, foram colocadas em lamínulas cobertas com Cell-Tak, fixadas em

a obtenção do número estimado de esferas magnéticas a ser utilizado no isolamento. formaldeído 2% em metanol a -20°C por 5 minutos, lavadas 2 vezes em PBS, 1 vez com PBS + Glicina 0,1M e 2 vezes em PBS.

A seguir, as células foram incubadas por 1 hora com o anticorpo primário BGD6 em PBS + BSA 1%. As lamínulas foram lavadas em PBS + BSA 1% e PBS e incubadas por 30 minutos com anti-IgG de jumento contra camundongo conjugado com FITC. Então, as lamínulas foram lavadas várias vezes em PBS e rapidamente em água destilada e montadas com Fluormont diluído em PBS na proporção 1:1.

D. Contagem das Células:

As células colhidas foram contadas em câmara de Neubauer para

As células foram coradas com May Grunwalds 0,2 % de metanol.

IV. RESULTADOS

Usando o mAb BGD6 conjugado às esferas magnéticas foi possível isolar precursores de mastócitos do sangue, 12 horas (Fig. 2) e 48 horas (Fig. 3) após depleção da cavidade peritoneal através de injeção de água destilada. Precursores de mastócitos e mastócitos em maturação também foram isolados da medula óssea do mesmo animal que sofreu depleção (Fig. 1).

Em animais controle não foram encontradas células ligadas às esferas magnéticas, indicando que não há migração de mastócitos para o repovoamento da cavidade peritoneal sem a prévia estimulação pela depleção da cavidade peritoneal por água destilada .

Nos animais injetados com água destilada observa-se que, 12, 24 e 48 horas após a depleção, há um aumento da população total de células no sangue. Observa-se, também, o aparecimento de células precursoras de mastócitos. Após 12, 24 e 48 horas da depleção , foi observado, respectivamente, 0,0000226 %; 0,0000785 %; 0,000021 % de mastócitos em relação à população total, em média (Tabela I).

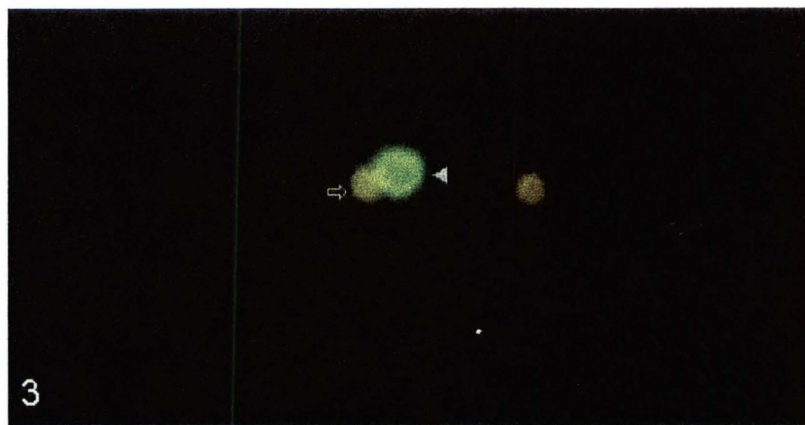
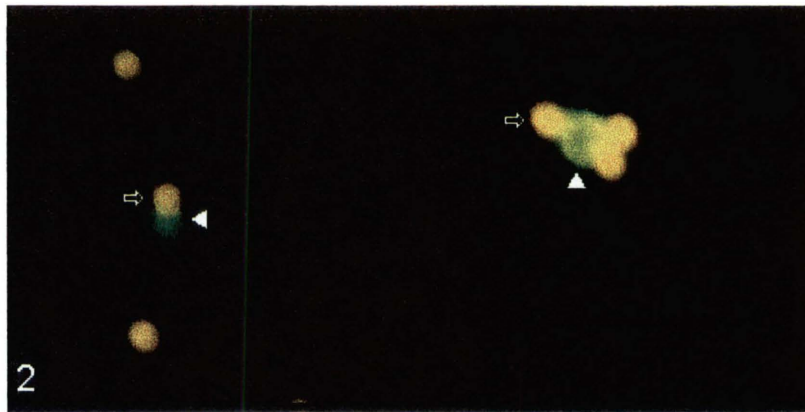
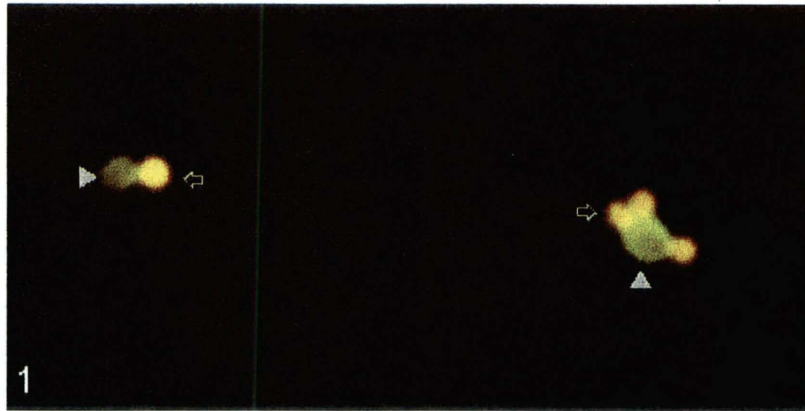
Após isolados com mAb BGD6 conjugado às esferas magnéticas, os mastócitos colhidos da medula óssea e do sangue foram imunomarcados com o anticorpo primário mAb BGD6 seguido de incubação com anticorpo secundário conjugado com FITC, apresentando marcação positiva na superfície (Fig. 1, 2 e 3).

V – FIGURAS

Fig. 1: Mastócito (cabeça de seta) isolado da medula óssea de rato com mAb BGD6 conjugado a esferas magnéticas (seta). A célula apresenta marcação positiva para o mAb BGD6 na superfície. (400x)

Fig. 2: Precursores de mastócitos do sangue de rato em diferentes estágios de maturação imunomarcados com mAb BGD6 (cabeça de seta), após isolamento com esferas magnéticas conjugadas ao mAb BGD6 (seta), após 12 horas da depleção da cavidade peritoneal. (400x)

Fig. 3: Precursor de mastócito do sangue de rato imunomarcado com mAb BGD6 (cabeça de seta), 48 horas após a depleção da cavidade peritoneal. Esferas magnéticas (seta). (400x)



ANEXO

TABELA 1: Porcentagem de mastócitos do sangue de rato, separados por imunoafinidade pelo mAb BGD6.

Experimento	População Total de Células do Sangue (Média)	% de Mastócitos do Sangue em Relação à População Total (Média)
Controle	$2,125 \times 10^{10}$	$2,125 \times 10^{10}$
12 horas	$0,59 \times 10^{10}$	$0,59 \times 10^{10}$
1 dia*	$0,687 \times 10^{10}$	$0,687 \times 10^{10}$
2 dias**	$7,075 \times 10^{10}$	$7,075 \times 10^{10}$

* 24 horas após depleção da cavidade peritoneal do rato com injeção de água destilada.

** 48 horas após a depleção da cavidade peritoneal do rato com injeção de água destilada.

VI. DISCUSSÃO

BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS / UFPA

A utilização do mAb BGD6 conjugado à esferas magnéticas é eficiente para a separação de células precursoras de mastócitos. Este anticorpo é específico para uma proteína presente na superfície dos mastócitos (HAMAWY et al, 1992).

A presença de mastócitos na corrente sanguínea gerou muitas controvérsias entre os pesquisadores (ZUCKER-FRANKLIN et al., 1981). A falta de um marcador específico para estas células impossibilitou estudos acurados para esclarecer esta questão. Com a utilização do mAb BGD6 conjugado a esferas magnéticas foi possível isolar e identificar precursores de mastócitos na medula óssea de rato (JAMUR et al,1997). Essas células encontradas no sangue após depleção são imunomarcadas pelo mAb BGD6, o que demonstra pertencerem à linhagem dos mastócitos.

O repovoamento e maturação dos mastócitos na cavidade peritoneal após injeção intraperitoneal de água destilada foi observado por FAWCETT (1955) e MENDONÇA et al.(1986). Com a depleção, ocorre estimulação da migração de precursores de mastócitos que deixam a medula óssea e vão repovoar a cavidade peritoneal (KITAMURA et al.,1993).

Segundo MORENO et al.(1997) a população de mastócitos da cavidade peritoneal corresponde a 25 % do total de células e na medula óssea, a 2,4 %. Após depleção, o número de mastócitos na cavidade peritoneal cai para 2,5 % após 2 dias, aumentando progressivamente para 11,5 % após 6 dias da depleção e 23,75 % após 10 dias. Na medula óssea o número de mastócitos

cai para 0,3 % após 2 dias, aumentando progressivamente para 0,49 % após 6 dias e 0,66 % após 10 dias.

Com o mAb BGD6 conseguimos isolar uma população pequena de precursores de mastócitos encontrados no sangue durante o processo de migração para repovoar a cavidade peritoneal de ratos que foram injetados com água destilada. Os resultados que obtivemos permitiram a caracterização de precursores de mastócitos no sangue periférico, após depleção dos mastócitos da cavidade peritoneal de ratos injetados com água destilada.

VII. CONCLUSÃO

O mAb BGD6 é eficiente para isolar células precursoras de mastócitos.

Em situações normais, onde não ocorreu a estimulação da migração por depleção da cavidade peritoneal, não são encontrados mastócitos no sangue circulante.

O repovoamento da cavidade peritoneal de rato se dá pela migração de precursores de mastócitos que deixam a medula óssea.

As células isoladas pelo mAb BGD6 conjugado às esferas magnéticas foram encontradas no sangue 12, 24 e 48 horas após depleção da cavidade peritoneal.

X. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CHEN, X. J.; ENERBACK, L. Application of an immunocolloid gold technique for the ultrastructural demonstration of IgE-receptor complexes on rat mast cell. *Apmis*, **102**:729-735, 1994.
- CSABA, G.; HODINKA, L.; SURJAN, L. Jr. Transport of mast cells by the blood circulation. *Experientia*, **25**:735, 1969.
- DENBURG, J. A.; RICHARDSON, M.; TELIZYN, S.; BIENENSTOCK, J. Basophil/mast cell precursors in human peripheral blood. *Blood*, **61**:775, 1983.
- ERLICH, P. Beitrage zur Kennthis der Anilinfar bungen und ihrer Verwendung in dermikroskopischen technik. *Arch. Mikr. Anat.*, **13**:263-277, 1877.
- FAWCETT, D. W. An experimental study of mast cell degranulation and regeneration. *Anat. Rec.*, **121**: 29-43, 1955.
- GALLI, S. J.; DVORAK, A. M.; DVORAK, H. F. Basophils and mast cell: morphologic insights into their biology, secretory patterns and function. *Prog. Allergy*, **34**:1, 1984.
- GALLI, S. J. New insights into "The riddle of the mast cells": microenvironmental regulation of mast cell development and phenotypic heterogeneity. *Lab. Inv.* **62**:5-33, 1990.
- GINSBURG, H.; SHAHAR, B. D. and BEN-DAVID, E. Mast cell growth on fibroblast monolayers: two-cell entities. *Immunol.*, **45**:371-308, 1982.
- GRECA, A. C.; MORENO, A. N.; JAMUR, M. C.; SUZUKI, L.; VUGMAN, I. A injeção de água destilada estimula o repovoamento da cavidade peritoneal e do mesentério por mastócitos. *VII Reunião Anual da FESBE. Anais p. 287*, 1992.
- GRODZKI, A. C.; MELLO, L. F. C.; LEITE, A. R.; OLIVER, C.; JAMUR, M. C. Immunomagnetic isolation of rat bone marrow

derived mast cells in all stages of maturation. **Braz. J. morphol. Sci.**, 13: 116, 1996.

HAMAWY, M. M.; OLIVER, C. D.; SIRAGANIAN, R. P. Inhibition of IgE binding to RBL- 2H3 cells by a monoclonal antibody (BGD6) to a surface protein other than the affinity receptor. **J. Immunol.** 148:524, 1992.

HATANAKA, K.; KITAMURA, Y.; NISHIMURE, Y. Local development of bone marrow- derived precursors in the skin of mice. **Blood**, 53: 142, 1979.

ISHIZAKA, T.; ISHIZAKA, K. Activation of mast cells mediator release through IgE receptor. **Prog. Allergy**, 34: 188-235, 1984.

JAMUR, M. C.; VUGMAN, I.; HAND A. R. Ultrastructural and cytochemical studies of acid phosphatase and trimetaphosphatase in rat peritoneal mast cell developing, *in vivo*. **Cell Tissue Res.**, 244:557, 1986.

JAMUR, M. C.; FARACO, C. D.; LUNARDI, L.O.; SIRAGANIAN, R. P.; OLIVER, C. Microwave fixation improves antigenicity of glutaraldehyde sensitive antigens while preserving ultrastructural detail. **J. Histochem. Cytochem.** 43(3): 307-311, 1995 a.

JAMUR, M. C.; MORENO, A. N.; GRODZKI, A. C. G.; SIRAGANIAN, R. P.; OLIVER, C. Immunomagnetic separation of rat peritoneal and bone marrow derived mast cell. **Mol. Biol. Cell**, 6: 447a, 1995 b.

JAMUR, M. C.; HAMAWY, M. M.; GRODZKI, A. C.; SIRAGANIAN, R. P.; OLIVER, C. Identification of a putative mast cell precursor using mast cell specific antibody BGD6 **Mol. Biol. Cell**, 7: 151a, 1996.

JAMUR, M. C.; GRODZKI, A. C. G. ; MORENO, A. N.; SWAIN, W.

D.; SIRAGANIAN, R. P. ; OLIVER, C. Immunomagnetic isolation of rat bone marrow -derivat and peritoneal mast cells. **J. Histochem. Cytochem.**, 45 (1):1-8, 1997.

- JORPES, E.; HOLMGREN, H.; WILANDER, D. Uber das Vorkommenvon heparin in der gefasuander und in der augen. **Z. Mikrosk.**, **42: 279-301**, 1937.
- KITAMURA, Y.; MATSUDA, H.; HATANAKA, K. Clonal mature of mast cells clusters formed in W/W mice after bone transplantation. **Nature**, **281: 154-155**, 1979.
- KITAMURA, Y.; YOKOYAMA, M.; MATSUDA, H.; OHNO, T. Spleen colony forming cell as common precursor for tissue mast cell and granulocytes. **Nature**, **291: 159-162**, 1981.
- MENDONÇA, V.O.; VUGMAN, I.; JAMUR, M.C. Maturation of adult rat peritoneal and mesenteric mast cell. A morphological and histofluorescence study. **Cell Tissue Res.** **243(3): 635-639**, 1986.
- MORENO, A N.; ORTOLANI-MACHADO, C. F.; MELLO, L. F. C.; OLIVER, C.; JAMUR, M. C. Depletion of peritoneal mast cell correlates with a reduction in bone marrow mast cell. **Mol. Bio. Cell**, **456a**, 1997.
- NAKAHATA, T.; SPICER, S. S.; CANTER, J. R.; OGAWA, M. Clonal assay of mouse mast cell colonies in methylcellulose culture. **Blood**, **60: 352**, 1982.
- NIEDERHEITMANN, C. B. H.; JAMUR, M. C. Identificação histoquímica de mastócitos de mesentério de rato, durante o processo de maturação. **VII Congresso Brasileiro de Biologia Celular. Anais**, p. 46, 1993.
- OLIVER, C.; SAHARA, N.; KITANI, S.; HOBBS, A. N.; MERTZ, L.M.; SIRAGANIAN, R. P. Binding of monoclonal antibody AA4 to gangliosides on rat basophilic leukemia cells produces changes similar to those seen with FCε receptor activation. **J. Cell Biol.** **116: 635**, 1992.
- SHARADER, J. W.; LEWA, I.; LEWIS-CLARK; CULVENOR. The peristing (P) cell: histamine content, regulation by a T-cell derived factor, origin form a bone marow precursor and relationship to mast

cells. **Proc. Natl. Acad. Sci., USA.** **78:323**, 1981.

SCHWARTZ, L. B.; KEPLEY, C. Development of markers for human basophil and mast cells. **J. Allergy. Immunol.**, **94 (6): 1231-1240**, 1994.

SIRAGANIAN, R. P. Mast cell and basophis. In: GALLI, J. I.; GOUDSTEIN, I. M.; SNYDERMAN, R. Inflammation: basic principles and clinical correlates. **New York, Raven Press, 513-542**, 1988.

SMITH, T. J.; WEIS, J. H. Mucosal T-cell and mast cells sharer common adhesion receptor. **Immun.Today**, **17:60**, 1996.

SONODA, T.; KANAYAMA, Y.; HARA, H.; HAYASHI, C.; TODOKORO, M.; YONEZAWA, T.; KITAMURA, Y. Proliferation of peritoneal mast cells in the skin of W/W^v mice that genetically lack mast cells. **J. Exp. Med.**, **160: 138-151**, 1984.

SONODA, S.; SONODA, T.; NAKANO, T.; KANAYAMA, Y.; KANAKURA, Y.; ASAI, H.; YONEZAWA, T.; KITAMURA, Y. Development of mucosal mast cells after injection of a single connective tissue-tipy mast cells in the stomach mucosa of genetically mast cell-deficient W/W^v mice. **J. Immunol.**, **137:1319-1322**, 1986.

VALENT, P. The riddler of the mast cell: kit (CD137)-ligand as the missing lin? **Imunol. Today**, **15(3):111**, 1994.

YUEN, E.; BROWN, R. D.; van der LUBBE L.; RICHARD, K.A.; KRONENBEER, H. Identification and characterization of human hemapoietic mast cell colonies. **Exp. Hematol.**, **16 (11):896-902**, 1988.

ZUCHER-FRANKLIN, D.; GRUSKY, D.; HIRAYAMA, N.; SCHNIPPER, E. The presence of mast cells precursors in rat peripheral blood. **Blood**, **58: 544**, 1981.