

Acta Microscópica (1987)
Vol. 10, n.ºs 1 y 2, págs. 177-182

CAMBIOS MORFOLOGICOS INDUCIDOS POR POLIMIXINA B Y ADRENALINA EN MASTOCITOS PLEURALES Y PERITONEALES DE RATON

MORPHOLOGICAL CHANGES INDUCED BY POLYMYXIN B AND EPINEPHRINE ON MICE PLEURAL AND PERITONEAL MAST CELLS

*L. M. BOTANA, **A. J. FERNANDEZ, y ***A. JOVER

*Departamento Fisiología, Fac. Vet. Lugo.

**Departamento Histología y A. Patológica. Fac. Vet.

Lugo.

***Departamento Histología y A. Patológica. Fac. Vet.

Córdoba.

RESUMEN

Se estudian los cambios de volumen inducidos por la adrenalina y la polimixina B en mastocitos pleurales y peritoneales de ratón. La adrenalina provoca hinchamiento de ambas poblaciones, siendo más destacado el fenómeno en los mastocitos peritoneales. El cambio de volumen debido a la polimixina B es consecuencia de la desgranulación que provoca en las células.

SUMMARY

Changes in volume on mice pleural and peritoneal mast cells are studied. A swelling phenomenon on both populations is detected when cells are stimulated with epinephrine or polymyxin B, even polymyxin B-morphologic changes are due to a degranulation process. Changes in volume are greater in peritoneal mast cells.

Palabras clave:

Mastocitos peritoneales, Mastocitos pleurales, polimixina B, Adrenalina, Hinchamiento

Key words: Peritoneal mast cells, Pleural mast cells, polymyxin B, Adrenaline, Swelling.

Introducción

Los mastocitos son células de tejido conectivo que se distribuyen ampliamente todo el cuerpo, principalmente en las zonas periféricas a los microvasos, pulmones, mucosa intestinal, etc. (1). Su papel fisiológico está todavía mal conocido, aunque se sabe bastante del papel que juegan en los procesos de hipersensibilidad inmediata, eliminación de infestaciones por helmintos y procesos inflamatorios (2).

Desde hace varios años, los mastocitos se emplean con gran asiduidad en numerosos laboratorios de investigación por dos razones fundamentales: su papel en los estados alérgicos, y porque constituyen un importante medio de estudio de los fenómenos bioquímicos asociados a los procesos de exocitosis (3).

Una característica ampliamente estudiada en estas células es su heterogeneidad, tanto entre distintas especies (4) como entre distintas regiones anatómicas en una misma especie (5).

Recientemente hemos caracterizado farmacológicamente la actividad adrenérgica de los mastocitos de pleura y de peritoneo de rata, estudiando ambas poblaciones como entidades farmacológicas distintas (6). En el presente trabajo ampliamos esos estudios desde un punto de vista nuevo, y es el de los cambios morfológicos que sufren los mastocitos de ratón al ser tratados con un agonista adrenérgico típico como es la adrenalina. Hemos estudiado, asimismo, los efectos que la polimixina B (un conocido agente desgranulador de mastocitos) induce en ambas poblaciones. Presentamos en este trabajo los resultados obtenidos al microscopio óptico y al electrónico.

Material y métodos

Aislamiento de los mastocitos

Los mastocitos fueron aislados de las cavidades peritoneal y torácica de ratones de 16 semanas de edad. El procedimiento de aislamiento de las células y los medios empleados para ello, el lavado de las células y las condiciones de incubación han sido descritas en un trabajo previo (7).

Observación de las células al microscopio

Las células fueron fijadas y teñidas con una solución a partes iguales de formol al 10% y de Azul de

Toluidina 1/1000, pH 7,2. Las observaciones al microscopio óptico se realizaron con un microscopio Optiphot Nikon, tipo 115, con una cámara fotográfica incorporada Nikon Fx-35.

Para las observaciones con microscopía óptica de Scanning, las células fueron fijadas con glutaraldehído 0,1 M al 5% en tampón cacodilato, pH 7,2, a temperatura ambiente, durante una hora. Posteriormente fueron lavadas con un tampón fosfato 7,2 y deshidratadas en una escala de concentraciones crecientes de acetona, pasadas por punto crítico y por un vaporizador de oro/paladio (20-30 nm). Las muestras fueron observadas y fotografiadas con un microscopio de scanning marca Phillips 501 B, de alta resolución (20-60 Kv), perteneciente al Servicio de Microscopía Electrónica de la Universidad de Córdoba.

Resultados

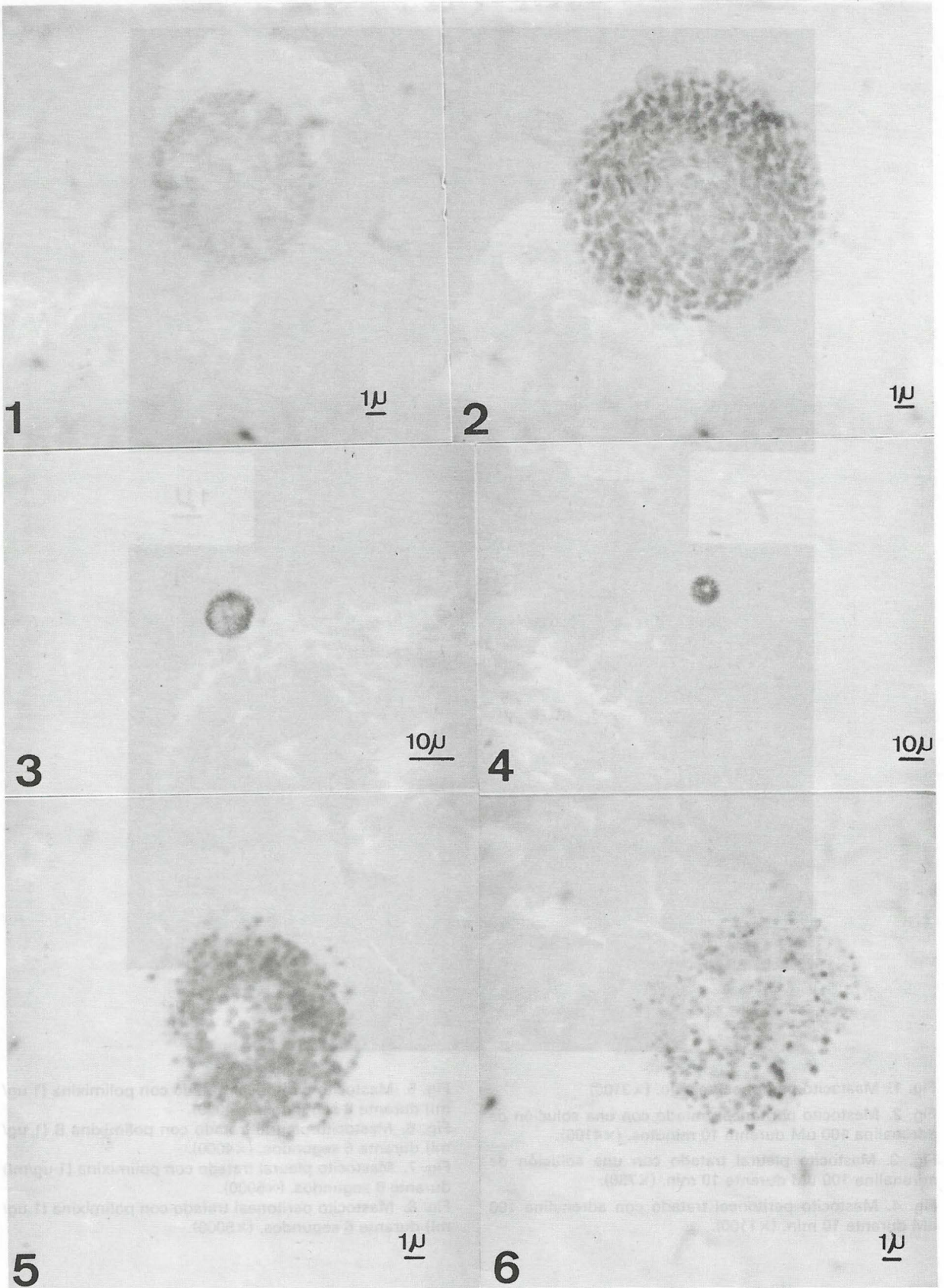
Células testigo: el tamaño medio medido de los mastocitos de la cavidad peritoneal y torácica difiere, siendo (diámetro en micras) de 9,3 y 7,5 respectivamente.

Células tratadas con adrenalina: La incubación de las células con adrenalina durante 10 minutos da lugar a un aumento del tamaño de las mismas, siendo los diámetros medidos en micras de 8,5 para los mastocitos pleurales y de 11,25 para los peritoneales.

Células tratadas con polimixina B: las células tratadas con polimixina B muestran también un aumento significativo del tamaño medio tanto en la población peritoneal como en la torácica. Los valores medidos (diámetro en micras) son de 8,5 para los mastocitos pleurales y 10 para los peritoneales (tabla 1). El porcentaje de incremento de tamaño de cada población tratada con adrenalina o polimixina con respecto a las células no tratadas se indica en la figura 1.

Discusión

Dos son las conclusiones importantes que pueden extraerse de los datos que presentamos. La primera es que las células cambian su volumen al ser tratadas con adrenalina o con polimixina B, la segunda es que este cambio es distinto en los mastocitos de tórax o de peritoneo, con lo que estos resultados confirman nuevamente el diverso patrón de respuestas farmacológicas que siguen las células peritoneales y pleurales. Los datos mues-



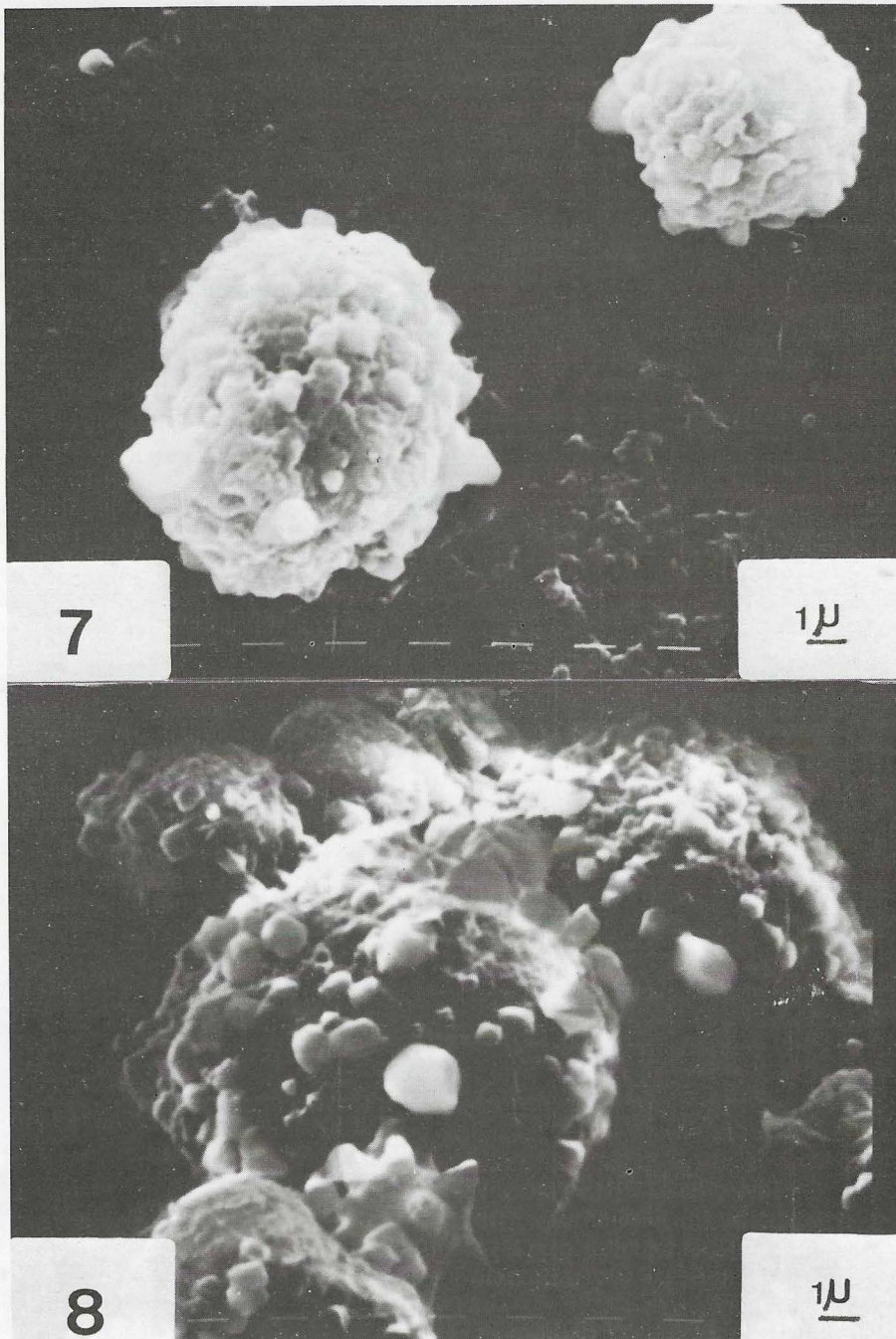


Fig. 1. Mastocito peritoneal testigo. ($\times 3100$).

Fig. 2. Mastocito peritoneal tratado con una solución de adrenalina 100 μ M durante 10 minutos. ($\times 4100$).

Fig. 3. Mastocito pleural tratado con una solución de adrenalina 100 μ M durante 10 min. ($\times 750$).

Fig. 4. Mastocito peritoneal tratado con adrenalina 100 μ M durante 10 min. ($\times 1100$).

Fig. 5. Mastocito peritoneal tratado con polimixina (1 μ g/ml) durante 6 segundos. ($\times 4000$).

Fig. 6. Mastocito pleural tratado con polimixina B (1 μ g/ml) durante 6 segundos. ($\times 4000$).

Fig. 7. Mastocito pleural tratado con polimixina (1 μ g/ml) durante 6 segundos. ($\times 5000$).

Fig. 8. Mastocito peritoneal tratado con polimixina (1 μ g/ml) durante 6 segundos. ($\times 5000$).

TABLA 1
TAMAÑO MEDIO EN MICRAS DE MASTOCITOS PLEURALES Y PERITONEALES TANTO TESTIGOS COMO TRATADOS CON POLIMIXINA B O ADRENALINA. MEDIA DE 100 MEDICIONES, CORRESPONDIENTES A DIEZ EXPERIENCIAS DISTINTAS (EN CADA EXPERIENCIA SE EMPLEARON 6 RATONES)

| MEDIA (MICRAS) | TESTIGO | ADRENALINA | POLIMIXINA |
|----------------|---------|------------|------------|
| PLEURA | 7,5 | 8,5 | 8,5 |
| PERITONEO | 9,3 | 11,25 | 10 |

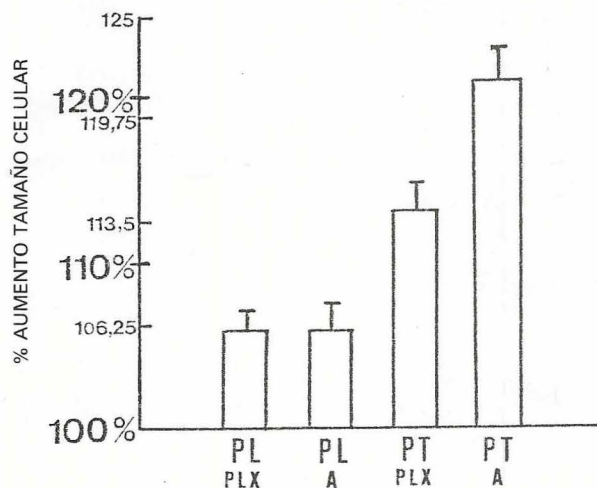


Fig. 1. Porcentaje de aumento del tamaño de los mastocitos pleurales (PL), peritoneal (PT) tratados con polimixina B (PLX) o con adrenalina (A).

tran que los mastocitos peritoneales son mucho más sensibles al hinchamiento que los pleurales.

Es importante resaltar el hecho hasta ahora no descrito de que los mastocitos pleurales presentan (al menos en ratón) menor tamaño que los mastocitos peritoneales, lo cual posiblemente tenga relación con las implicaciones fisiológicas que ambas subpoblaciones puedan tener.

La alteración de volumen que induce la polimixina B debe de asumirse como una consecuencia de la marcada desgranulación que ésta sustancia induce en los mastocitos, lo cual es un fenómeno ampliamente descrito (8). Por tanto, este aumento de volumen es un artefacto consecuente a la desgranulación de los mastocitos (ver iconografía). No ocurre así con la adrenalina. Esta, por sí sola, no provoca desgranulación de los mastocitos, pero sí un mar-

cado aumento del volumen celular. Este proceso es difícil de explicar, puesto que un aumento de volumen celular, tiene relación siempre con una alteración de los flujos iónicos celulares, y por consiguiente con el flujo de agua (9). Una explicación para este fenómeno requeriría estudios bioquímicos que no han sido aún realizados, pero parece lógico adscribir el efecto a dos posibles causas: a) algún tipo de acción inespecífica de las adrenalina, o b) la consecuencia de una acción mediada por receptores adrenérgicos. Esta última posibilidad apoyaría algunos de los datos obtenidos en trabajos previos (10), en los que observamos una inhibición estereoselectiva de la adrenalina frente al estímulo desgranulador de las poliaminas.

Algunos autores han descrito a la adrenalina como un inhibidor del metabolismo celular (11), lo cual puede también justificar el hinchamiento de las células, ya que al disminuir la reserva de ATP, el rendimiento de la actividad ATPasa es menor, con lo que se alterarían los flujos iónicos.

En resumen, mostramos claras modificaciones morfológicas de los mastocitos pleurales y peritoneales inducidas por la adrenalina y la polimixina B.

BIBLIOGRAFIA

1. Kazimierczak, W. y Diamant, B.: Mechanisms of histamine release in anaphylactic and anaphylactoid reactions. *Progress in Allergy*, (Eds. P. Kallós et al.), 24: 295-365 (1978).
2. Wasserman, S. I.: The human mast cell. *Environ, health perspectives* 55: 259-269 (1984).
3. Kaliner, M. y Lemanske, R.: Inflammatory responses to mast cell granules. *Fed. Proc.*, 43: 2846-2951 (1984).
4. Barrett, K. E. y Metcalfe, D. D.: Mast cell heterogeneity: evidence and implications. *J. Clin. Immunol.*, 4: 253-261 (1984).

5. **Bienenstock, J., Befus, A. D., Pearce, F., Denburg, J. y Goodacre, R.:** Mast cell heterogeneity: derivation and function, with emphasis on the intestine. *J. Allergy and Clin. Immunol.*, 70: 407-412 (1981).

6. **Botana, L. M., Espinosa, J., Eleno, E., Segura, C. y Fernández-Otero, M. P.:** Difference in, and influence of the purification medium on, rat pleural and peritoneal mast cells stimulated by certain polyamines. *Agents and Actions*, 16: 312-316 (1985).

7. **Botana, L. M., Espinosa, J. y Fernández-Otero, M. P.:** Purificación de mastocitos de fluido peritoneal de rata utilizando gradientes continuos de Ficoll. *Rev. Esp. Fisiol.*, 39: 435-440 (1983).

8. **Johnson, A. R. y Moran, N. C.:** Inhibition of the

release of histamine from rat mast cells: the effect of cold and adrenergic drugs on release of histamine by compound 48/80 and antigen. *J. Pharmacol. Exper. Therap.*, 175: 632-640 (1970).

9. **Alm, P. E. y Bloom, G. D.:** What- if any- is the role of adrenergic mechanisms in histamine release from mast cells? *Agents and Action s* 11: 60-66 (1981).

10. **Botana, L. M., Orallo, F., Espinosa, J. y Calleja, J. M.:** In vivo inhibition of polymyxin B-induced hypotension: evidence of beta adrenergic inhibitory activity on rat mast cells. *Gen. Pharmacol.*, 17: 615-618 (1986).

11. **Alm, P. E. y Bloom, G. D.:** Effect of norepinephrine on in vitro histamine release from rat mast cell. *Int. Arch. Allergy Appl. Immun.* 60: 60-67 (1979).

cada aumento del volumen celular. Este proceso es difícil de explicar, puesto que un aumento de volumen celular, tiene relación siempre con una estimulación de los flujos iónicos celulares, y por consiguiente con el flujo de agua (9). Una explicación para este fenómeno requiere estudios bioquímicos que no han sido aun realizados, pero parece lógico atribuir el efecto a dos posibles causas: a) algún tipo de acción inespecífica de las adrenalina, o b) la consecuencia de una acción mediada por receptores adrenérgicos. Esta última posibilidad apoyará algunos de los datos obtenidos en trabajos previos (10), en los que observamos una inhibición esteroespecífica de la adrenalina frente al estímulo desgranulador de las políminas. Algunos autores han descrito a la adrenalina como un inhibidor del metabolismo celular (11), lo cual puede también justificar el hinchamiento de las células, ya que al disminuir la reserva de ATP, el hinchamiento de la actividad ATPasa es menor, con lo que se agotan los flujos iónicos.

En resumen, mostramos claras modificaciones morfológicas de los mastocitos pleurales y peritoneales inducidas por la adrenalina y la políminas B.

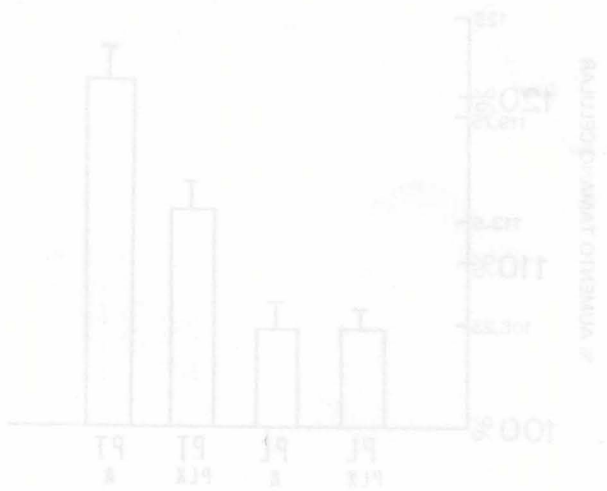


Fig. 1. Porcentaje de aumento del tamaño de los mastocitos pleurales (PT), peritoneales (PI) tratados con políminas B (PxB) o con adrenalina (A).

tan que los mastocitos peritoneales son mucho más sensibles al hinchamiento que los pleurales. Es importante resaltar el hecho de que el hinchamiento de los mastocitos pleurales presentan (al menos en ratón) menor tamaño que los mastocitos peritoneales, lo cual podría estar relacionado con las implicaciones fisiológicas que ambas subpoblaciones puedan tener.

La alteración de volumen que induce la políminas B debe de seguirse como una consecuencia de la marcada desgranulación que este sustancia induce en los mastocitos. Igual es un fenómeno complejo frente a adrenalina (8). Por tanto, este aumento de volumen es un efecto consecuente a la desgranulación de los mastocitos (ver iconografía). No ocurre así con la adrenalina, tal por el solo, no provoca desgranulación de los mastocitos, pero sí un mar-

BIBLIOGRAFIA

1. Kozłowski, W. y Diamant, E.: Mechanisms of histamine release in anaphylactic and anaphylatoxin reactions. *Progress in Allergy* (Eds. F. Kallós et al.), 28: 285-292 (1978).

2. Wasserman, S. I.: The human mast cell. *Environ. Health Perspectives* 55: 229-260 (1984).

3. Kallós, M. y Lamark, R.: Inflammatory responses to mast cell granules. *Fed. Proc.* 43: 2848-2857 (1984).

4. Barrett, K. E. y Mitchell, D. D.: Mast cell heterogeneity: evidence and implications. *J. Clin. Immunol.* 4: 283-287 (1984).