

ACTIVIDAD DE LOS MASTOCITOS DE LA MUCOSA INTESTINAL EN RATAS CON HIPERSENSIBILIDAD Y MECANISMOS REGULADORES DE LA FUNCIÓN MASTOCITARIA

Yolanda Saavedra Torres, 2005

Introducción: Existen una serie de alteraciones intestinales de causa desconocida, que se engloban bajo el nombre Síndrome del Intestino Irritable (IBS), y que se caracterizan por hipersensibilidad intestinal. Las alergias alimentarias y la intolerancia a algunos componentes de la dieta, entre otros, se han descrito como posibles factores con un papel importante en la aparición y perpetuación del IBS. Los mastocitos, presentes en los tejidos en condiciones fisiológicas, e implicados en la patogénesis de la alergia, podrían influir, mediante la liberación de mediadores, sobre la actividad motora intestinal tanto en situación fisiológica como patológica.

Objetivo: Los objetivos de este estudio han sido:

- 1) Valorar si la somatostatina (SS) podría contribuir a la reducción de la degranulación de los mastocitos de la mucosa intestinal (IMMC).
- 2) Determinar si la sensibilización podría inducir alteraciones motoras funcionales crónicas en el intestino y los mecanismos implicados.
- 3) Establecer un modelo adecuado de hipersensibilidad alimentaria.
- 4) Determinar si factores genéticos podrían determinar el tipo de respuesta inmune y las consecuencias funcionales de la sensibilización.

Métodos: Mediante perfusión duodenal en rata anestesiada se valoró el efecto de la SS sobre la concentración en perfundido de Rat Mast Cell Protease II (RMCPII) en condiciones basales y de estimulación con una peptona, y también en ratas con hiperplasia mastocitaria infectadas con *Trichinella spiralis*. Mediante inmunofluorescencia se valoró la presencia de receptores para la SS en los mastocitos. Ratas Sprague-Dawley (SD) y ratas Brown Norway (BN, predispuestas genéticamente a alergias) fueron sensibilizadas a la ovoalbúmina (OVA) mediante tres protocolos de inducción distintos (dos parenterales y uno oral) y se valoró la concentración sérica de IgEs y RMCPII mediante ELISA, la motilidad intestinal mediante *strain gauges*, la actividad mastocitaria intestinal mediante estimulación de secciones intestinales *in vitro* y mediante perfusión duodenal *in vivo*, y el número de IMMC mediante inmunohistoquímica.

Resultados: La somatostatina, actuando directamente sobre receptores mastocitarios, disminuye la actividad de los mastocitos de la mucosa intestinal. Sólo las ratas BN manifestaron un incremento en la concentración de IgE en respuesta a la sensibilización. Todas ratas sensibilizadas mostraron hipermotilidad en el intestino delgado. La liberación de RMCPII *in vitro* estaba incrementada en ratas sensibilizadas. La liberación de RMCPII a la luz intestinal se correlaciona con el número de IMMC, ambos parámetros aumentaron en las ratas SD y disminuyeron en las ratas BN, en respuesta a la sensibilización. Sólo las ratas sensibilizadas por vía parenteral respondieron a la exposición al antígeno con un aumento en la concentración sérica de RMCPII.

Conclusiones y posibles áreas para futuros estudios: La somatostatina reduce la actividad mastocitaria tanto en situación fisiológica como durante la hiperplasia mastocitaria. Según esta acción, la SS y sus análogos podrían utilizarse para disminuir la actividad mastocitaria y prevenir las respuestas anómalas de los mastocitos en procesos inflamatorios y alérgicos del intestino o que cursen con hipersensibilidad visceral, como por ejemplo el IBS.

La hipersensibilidad a las proteínas de la dieta induce alteraciones motoras crónicas que persisten más allá de la exposición al antígeno, y un estado de excitación/activación de los IMMC sensibilizados. Esta sensibilidad aumentada de los mastocitos podría ser responsable del mantenimiento de una excitabilidad aumentada en las estructuras nerviosas del intestino, lo cual podría explicar algunos de los signos clínicos observados en pacientes con IBS.

La sensibilización oral a la OVA es tanto en las ratas BN como en las SD una respuesta restringida al intestino, haciendo que sea difícil de diagnosticar por métodos convencionales (IgEs y mediadores mastocitarios en suero). El número de IMMC y la actividad mastocitaria muestran una clara correlación con la actividad motora intestinal. La sensibilización oral a la OVA en individuos predispuestos a la atopia podría utilizarse para atenuar las consecuencias funcionales de la alergia.

INTESTINAL MUCOSAL MAST CELL ACTIVITY IN RATS WITH HYPERSENSITIVITY AND REGULATORY MECHANISMS OF MAST CELL FUNCTION

(Yolanda Saavedra Torres, 2005)

Introduction: Several disorders of unknown etiology, characterized by intestinal hypersensitivity are grouped under the name Irritable Bowel Syndrome (IBS). Food allergy and food intolerance, between others, have been proposed as possible causes promoting and perpetuating IBS. Mast cells, present in tissues in physiologic conditions and also implicated in allergy pathogenesis, could influence, through release of mediators, on intestinal motor activity under physiologic and pathologic situations.

Aim: The aims of this study were:

- 1) To evaluate if somatostatin (SS) could contribute to the reduction of intestinal mucosal mast cell (IMMC) degranulation.
- 2) To find out if sensitization could induce chronic functional motor disturbances in the intestine and the mechanisms implicated.
- 3) To establish a suitable model of food hypersensitivity.
- 4) To evaluate if the genetic background could determine the type of immune response and the functional consequences of sensitization.

Methods: Anesthetized rats were prepared for duodenal perfusion and the effect of SS on RMCP II concentration in duodenal perfusate was measured in basal conditions and after stimulation with a peptone, and also in rats with mast cell hyperplasia infected with *T. spiralis*. The presence of SS receptors in mast cells was demonstrated using immunofluorescence. Sprague-Dawley (SD) and Brown Norway (BN, genetically predisposed to allergies) rats were sensitized to ovalbumin (OVA) following three different hypersensitivity induction protocols (two parenteral and one oral), and IgE and RMCP II concentration in serum was measured by ELISA. Small intestinal motility was evaluated using strain gauges. Intestinal mast cell activity was evaluated in intestinal sections *in vitro* and by duodenal perfusion *in vivo*. IMMC number was determined by immunohistochemistry.

Results: Somatostatin reduced mucosal mast cell activity and SS receptors were found in these cells. Only in BN rats IgEs increased after sensitization. All sensitized rats showed hypermotility of the small intestine. RMCP II release *in vitro* increased in

sensitized rats. RMCP II release to the intestinal lumen correlates with IMMC number, both parameters increased in SD rats and decreased in BN rats, in response to sensitization. Only rats sensitized by parenteral procedures showed an increase in RMCP II concentration in serum after OVA challenge.

Conclusions and possible areas for future studies: Somatostatin reduces mucosal mast cell activity both in physiological conditions and during mast cell hyperplasia. This action raises the possibility that SS and its analogues could be used in the treatment of inflammatory and allergic intestinal processes as well as others characterized by visceral hypersensitivity, such as IBS.

Hypersensitivity to food proteins induces chronic motor alteration that persists long after antigen challenge and an excited/activated state of sensitized mucosal mast cells. The increased mast cell sensitivity could be responsible of the increased excitability of the nervous structures of the intestine, and could explain some of the clinical signs observed in IBS patients

Oral sensitization to OVA is in both, BN and SD rats, a restricted response to the intestine, making it difficult to be diagnosed by conventional methods (IgE and RMCP II concentration in serum). IMMC number and mast cell activity show a clear correlation with intestinal motor activity. Oral sensitization to OVA in atopy predisposed individuals could be used to ameliorate the functional consequences of allergy.