

МОДУЛЯЦИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ТУЧНЫХ КЛЕТОК ХОЛИНЕРГИЧЕСКИМИ АГЕНТАМИ

© 2018 г. Н. А. Кутукова¹, П. Г. Назаров^{1,2}

¹ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия;

²Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Поступила: 12.05.2018. Принята: 23.06.2018

Являясь иммунокомпетентными клетками, мастоциты имеют ряд свойств, характерных для клеток нервной системы, отчего их нередко рассматривают в качестве ключевых посредников между интегрирующими системами организма. Учитывая нарастающий интерес научного сообщества к проблеме противовоспалительной функции парасимпатической нервной системы, вопрос о регуляторном воздействии холинергических нервных волокон на работу тучных клеток изучен недостаточно. В качестве модели тучных клеток использовали клетки перевиваемой линии тучных клеток человека НМС-1. Результаты нашего исследования показали, что карбахол (Sch), функциональный аналог ацетилхолина (АХ), проявляет одновременно свойства либератора гистамина и супрессора IgG-индуцированной активации тучных клеток. Такое двойственное влияние нейромедиатора может указывать на наличие холинергического тонуса, поддерживающего возбуждение тучных клеток на определенном уровне. Показано, что модулирующее влияние Sch на функциональную активность клеток линии НМС-1 реализуется через никотиновые ацетилхолиновые рецепторы (н-АХР). Полученные нами данные способствуют углублению представлений о механизмах негативной регуляции работы тучных клеток.

Ключевые слова: тучные клетки человека, ацетилхолин, холиномиметики, холинолитики, бунгаротоксин

DOI: 10.31857/S102872210002406-1

Адрес: 197376 Санкт-Петербург, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», отдел иммунологии. Кутукова Надежда Александровна;

Тел.: +79111492527, E-mail: i_n_a_777@mail.ru.

Авторы:

Кутукова Н. А., научный сотрудник Отдела иммунологии, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия;

Назаров П. Г., руководитель Отдела иммунологии, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия.

ВВЕДЕНИЕ

Способность организма сохранять постоянство внутренней среды и противостоять внешним воздействиям осуществляется благодаря координированной работе нервной и иммунной систем. Тучные клетки, эффекторные клетки иммунной системы, располагаются в васкуляризованных тканях всегда на границе с внешней средой, вблизи нервных терминалей, в тесной ассоциации с кровеносными и лимфатическими сосуда-

ми [1, 2]. Близкое соседство нервных окончаний вегетативной нервной системы и тучных клеток, их сходный рецепторный аппарат и сходный набор биологически активных веществ дает основание рассматривать мастоциты в контексте нейро-иммунных взаимодействий, в качестве одного из ключевых посредников между интегрирующими системами организма [3–5].

Занимая стратегически важное местоположение, мастоциты являются ведущими составляющими первичной линии защиты против патогенов. В ответ на различные стимулы иммунной и неиммунной природы тучные клетки высвобождают провоспалительные цитокины, что способствует привлечению других клеток иммунной системы и запуску процесса воспаления [6]. Чрезмерно выраженная активация тучных клеток приводит к нарушению целостности ткани. Несмотря на хорошо изученную роль мастоцитов в локальном и системном воспалении, процесс их регуляции вегетатив-

ным отделом нервной системы остается недостаточно охарактеризованным [7].

Преобладающая часть исследований, посвященных нейро-мастоцитарным взаимодействиям, сосредоточена на изучении взаимосвязи тучных клеток и пептидергических нервных волокон. Их взаимовлияние носит являющийся мутуалистическим, характеризуется выработкой нейротрансмиттеров и провоспалительных медиаторов, соответственно, и лежит в основе нейрогенного воспаления [8].

Помимо пептидергических, холинергические нервные волокна также обладают иммуномодулирующими свойствами. Иммунорегулирующее влияние блуждающего нерва получило название холинергического противовоспалительного рефлекса. Противовоспалительная функция блуждающего нерва была впервые отмечена в исследованиях К. Дж. Tracey и соавт., выполненных на грызунах. В условиях *in vivo* было показано, что прямая стимуляция волокон блуждающего нерва препятствует развитию эндотоксического шока путем ингибиции синтеза ФНО- α макрофагами [9–12]. Несмотря на потенциальную важность иммуномодулирующей функции блуждающего нерва в ряде воспалительных процессов, имеется ограниченный объем знаний о холинергической регуляции функциональной активности тучных клеток. Изучение данного вопроса поможет сформировать представление о взаимосвязи тучных клеток и парасимпатической нервной системы, как об отдельной нейро-мастоцитарной функциональной единице, способной контролировать множество физиологических и патофизиологических процессов.

Целью данного исследования являлось изучение характера влияния холинергических агентов на спонтанную и активированную агрегированным иммуноглобулином IgG человека секреторную активность тучных клеток человека линии НМС-1.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве тучных клеток человека использовали опухолевую линию НМС-1, полученную у J. H. Butterfield (Mayo Clinic, Rochester, MN). Клетки линии НМС-1 по многим аспектам сопоставимы с незрелыми тучными клетками соединительной ткани человека. Существенное отличие заключается в отсутствии у них рецепторов для IgE, как высокоаффинных (Fc ϵ RI), так и низкоаффинных (CD23). Рецепторы к иммуноглобулину класса IgG экспрессируются

на клетках линии НМС-1 так же, как на нормальных мастоцитах.

Клетки НМС-1 культивировали в среде Искова (Iscove's Modified Dulbecco's Medium (IMDM); Биолот, Санкт-Петербург, Россия) с добавлением 10% обогатенной ионами железа фетальной телячьей сыворотки (FCS; Hyclone, США), 1,2 мМ монотиоглицерола (Sigma-Aldrich, США) и 40 мкг/мл сульфата гентамицина (Самсон, Санкт-Петербург, Россия). Клеточную линию инкубировали в CO₂-инкубаторе при температуре 37 °С во влажной атмосфере с 5% CO₂ в воздухе. Пересев производили раз в 3–4 дня. НМС-1 хранили в суспензионной культуре при клеточной плотности 5 × 10⁵ Кл/мл.

Препараты, используемые для активации тучных клеток

В качестве положительного контроля при стимуляции высвобождения преформированных медиаторов использовали человеческий IgG (agg IgG) (Имтек, Москва, Россия), агрегированный нами на водяной бане при температуре 63 °С в течение 10 мин. Для холинергического воздействия на тучные клетки использовали карбахол (Sch) – неметаболизируемый синтетический аналог ацетилхолина (Sigma-Aldrich, США). Жизнеспособность клеток в ответ на действие рабочих концентраций препаратов оценивали на проточном цитофлуориметре с помощью раствора йодистого пропидия (Sigma-Aldrich, США).

Препараты, используемые для блокады холинорецепторов

Никотиновые ацетилхолиновые рецепторы (н-АХР) блокировали с помощью гексаметония бензолсульфоната (бензогексоний) (Hex) (Sigma-Aldrich, США), неселективного блокатора н-АХР, и α -бунгаротоксина (α -ВТХ) (Invitrogen, США), селективного высокоаффинного антагониста н-АХР, который блокирует рецептор связываясь с его $\alpha 7$ -субъединицей. Мускариновые ацетилхолиновые рецепторы (м-АХР) блокировали с помощью атропина (ATR) (Дальхимфарм, Хабаровск, Россия), неселективного блокатора м-АХР, и пирензипина (Prz) (Sigma-Aldrich, США), специфического блокатора М1-холинорецепторов.

Протокол активации тучных клеток

Тучные клетки линии НМС-1 промывали и разводили в растворе Хенкса, дополненном

2% FCS. После этого клеточную суспензию делили на равные части и добавляли равный объем исследуемых препаратов. В качестве положительного контроля использовали agg IgG человека, способность которого вызывать дегрануляцию тучных клеток и базофилов показана ранее [16–21]. Для изучения холинергической модуляции функциональной активности тучных клеток проводили предобработку клеток с помощью Cch, предшествующую добавлению агрегированного Ig G. Для изучения вовлеченности н- и м-холинорецепторов в данный процесс тучные клетки поочередно подвергали предобработке блокаторами н-АХР и м-АХР, после чего добавляли Cch или agg IgG, или оба стимулирующих агента вместе. Холинергические препараты добавляли к суспензии клеток и поодиночке. Каждую обработку тучных клеток исследуемыми веществами сопровождали инкубацией в течение 30 минут при температуре 37 °С. По окончании инкубации эппендорфы с клеточной суспензией помещали на лед для остановки реакции, и клетки осаждали центрифугированием при 200 g в течение 5 минут. Надосадочную фракцию, содержащую выделившиеся преформированные медиаторы тучных клеток, отбирали в отдельные пробирки и замораживали при –20 °С. Для тотального выхода медиаторов мастоциты разводили деионизированной водой и разрушали замораживанием/оттаиванием.

Оценка активации тучных клеток по выходу гистамина

Выход гистамина из тучных клеток определяли с помощью модифицированного метода Шора, основанного на реакции конденсации гистамина с ортофталевым альдегидом [13]. В результате реакции образовывался флуоресцирующий комплекс, интенсивность флуоресценции которого измеряли на приборе Fluoroscan Accent FL (Thermo Fisher Scientific, США) при длине волны возбуждения 350 нм и эмиссии 460 нм. По яркости флуоресценции, выраженной в единицах флуоресценции (RFU – relative fluorescent units), и калибровочной кривой судили о количестве гистамина в пробе. Долю выделившегося гистамина высчитывали по формуле: $A/(A+B)$, где А – содержание биогенного амина в надосадочной жидкости, В – содержание медиатора в осадке (клеточном лизате). RFU пересчитывали в условные единицы (у.е.) и выражали в виде отношения к отрицательному контролю, который принимали за единицу.

Оценка активации тучных клеток по выходу интерлейкина-4

Концентрацию IL-4 в супернатантах клеток линии НМС-1 оценивали твердофазным иммуноферментным методом с помощью коммерческого набора реагентов на ИЛ-4 человека («ИФА-IL-4», ООО «Цитокин», Санкт-Петербург, Россия) согласно протоколу производителя.

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакетов программ Microsoft Office Excel, BioStat. Результаты представляли в виде средней арифметической, вычисленной по 3–10 независимым опытам, и средней квадратичной ошибки ($M \pm m$). Для определения различий между независимыми группами нормально распределенных данных использовали t-критерий Стьюдента. Достоверными считали различия при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Для оценки способности холиномиметиков влиять на спонтанное высвобождение гистамина тучными клетками человека линии НМС-1,

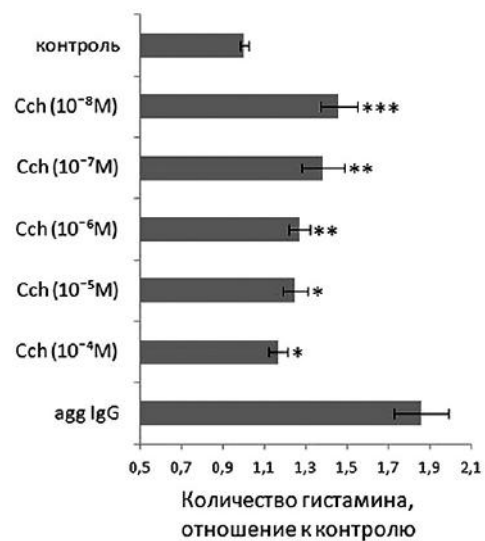


Рис. 1. Влияние разных концентраций карбахола на высвобождение гистамина тучными клетками человека линии НМС-1.

По оси ординат – молярные концентрации карбахола, отрицательный контроль – раствор Хенкса, положительный контроль – agg IgG человека (10 мкг/мл). Здесь и далее: по оси абсцисс – средние показатели по высвобождению гистамина в ответ на влияние стимулирующих агентов, пересчитанные по отношению к отрицательному контролю, который был принят за единицу. Результаты представлены в виде средней арифметической значений, полученных в 10 независимых опытах, и ошибки средней ($M \pm m$). Достоверность отличия от контроля: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$. Сокращение: Cch – карбахол, agg IgG – агрегированный Ig G.

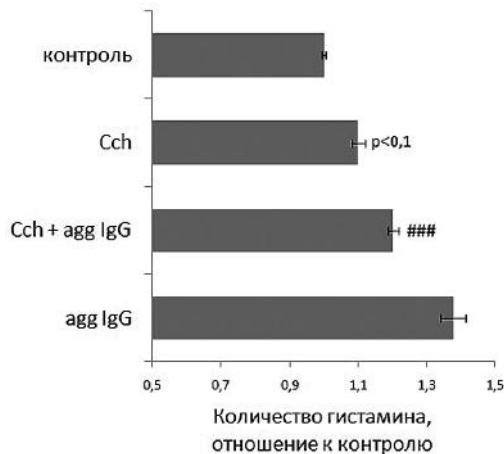


Рис. 2. Влияние карбахола на IgG-опосредованное высвобождение гистамина тучными клетками линии НМС-1.

По оси ординат – карбахол сам по себе (10^{-8} М) и в комбинации с agg IgG, отрицательный контроль – раствор Хенкса, положительный контроль – agg IgG человека (10 мкг/мл). p < 0,1 – отличие от контроля при p < 0,1; ### – достоверное отличие от agg IgG при p < 0,001. Сокращения: Cch – карбахол, agg IgG – агрегированный Ig G.

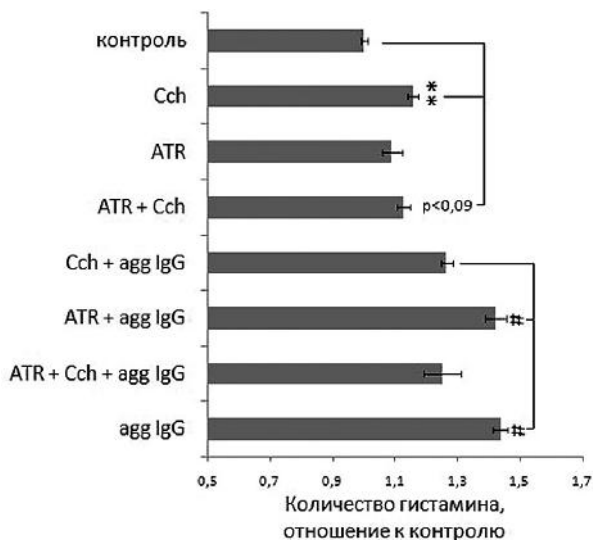


Рис. 3. Влияние атропина, блокатора м-АХР, на высвобождение гистамина тучными клетками человека линии НМС-1, вызванное карбахолом, агрегированным IgG и совместным использованием индукторов.

По оси ординат – холинергические агенты сами по себе (Cch – 10^{-8} М, ATR (10^{-4} М)), в комбинации друг с другом и с agg IgG, отрицательный контроль – раствор Хенкса, положительный контроль – agg IgG (10 мкг/мл). ** – достоверное отличие от контроля – p < 0,01; # – достоверное отличие от (Cch+agg IgG) при p < 0,05. Сокращения: м-АХР – ацетилхолиновые рецепторы мускаринового типа, Cch – карбахол, agg IgG – агрегированный IgG, ATR – атропин.

последние инкубировали с разными концентрациями Ссh (рис. 1), функционального аналога АХ. Результаты показали, что клетки линии НМС-1 проявляли высокую чувствительность к холинергической стимуляции карбахолом. Достоверное увеличение выброса гистамина наступало уже при концентрации Ссh равной 10^{-4} М и усиливалось дозозависимым образом с уменьшением концентрации холиномиметика (рис. 1). Наиболее эффективное высвобождение гистамина наблюдалось при дозе Ссh равной 10^{-8} М. Данную концентрацию выбрали в качестве оптимальной для возбуждения тучных клеток линии НМС-1 к дегрануляции в последующих опытах.

Вследствие отсутствия на клетках линии НМС-1 экспрессии Fcε-рецепторов, мастоциты данной культуры не могут связывать реагены. Для этих клеток подходит способ активации IgG-содержащими иммунными комплексами через низкоаффинный рецептор активирующего типа FcγRIIA (CD32a). Для оценки влияния Ссh на IgG-опосредованное высвобождение гистамина клетками линии НМС-1 мастоциты сначала прединкубировали в растворе холиномиметика в течение 30 минут, а затем стимулировали agg IgG человека. Как и в предыдущей серии экспериментов, Ссh сам по себе способствовал высвобождению гистамина тучными клетками линии НМС-1, но при этом оказывал достоверный ингибирующий эффект на IgG-индуцированное высвобождение гистамина (рис. 2).

Для изучения вовлеченности холинорецепторов в процесс Ссh-зависимой модуляции функциональной активности тучных клеток линии НМС-1 проводили поочередную предобработку клеток блокаторами м-АХР (рис. 3) и н-АХР (рис. 4), перед тем, как добавлять к клеткам Ссh, agg IgG или оба эти стимулирующие агенты вместе. Для блокады рецепторов мускаринового типа применяли неселективный антагонист м-АХР – атропин (ATR) (рис. 3). При этом было показано, что предварительная обработка тучных клеток линии НМС-1 блокатором м-АХР атропином не влияла на Ссh-индуцированное высвобождение гистамина и не отменяла ингибирующего действия холиномиметика Ссh, на IgG-индуцированную активацию клеток (рис. 3). Атропин, сам по себе, не вызывал активацию тучных клеток линии НМС-1 (т.е. не вызывал дегрануляцию и выброс гистамина), а также не изменял уровень гистамина, высвободившийся в ответ на стимуляцию клеток

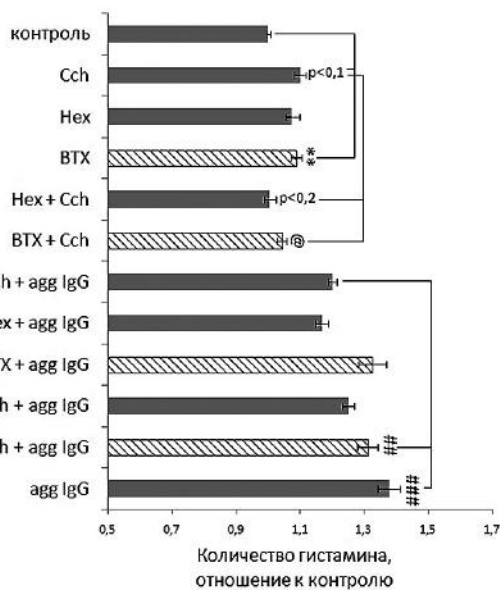


Рис. 4. Влияние блокаторов н-АХР на высвобождение гистамина тучными клетками человека линии НМС-1, вызванное карбахолом, агрегированным IgG и совместным использованием индукторов.

По оси ординат – холинергические агенты сами по себе (Cch (10⁻⁸M), Hex (10⁻⁵M), BTX (10⁻⁶M)), а также в комбинации с Cch и agg IgG, отрицательный контроль – раствор Хенкса, положительный контроль – agg IgG (10 мкг/мл). ** – достоверное отличие от контроля при p < 0,01; @ – достоверное отличие от Cch при p < 0,05; ## – достоверное отличие от (Cch+agg IgG) при p < 0,01; ### – достоверное отличие от (Cch+agg IgG) при p < 0,001. Сокращения: н-АХР – ацетилхолиновые рецепторы никотинового типа, Cch – карбахол, Hex – бензогексоний (гексаметоний), agg IgG – агрегированный IgG, BTX – α-бунгаротоксин.

agg IgG (рис. 3). Таким образом, не наблюдалось участия мускариновых рецепторов в процессе Cch-зависимой модуляции функциональной активности тучных клеток.

Для того чтобы изучить участие никотинового звена холинергической регуляции функциональной активности тучных клеток линии НМС-1, мастоциты предобрабатывали неселективным блокатором н-АХР, бензогексонием (Hex) (рис. 4). Чтобы изучить вовлеченность α7-субъединицы н-АХР, ключевого звена холинергического противовоспалительного рефлекса, в модуляцию работы клеток НМС-1, проводили также селективную предобработку клеток α-бунгаротоксином (α-BTX) (рис. 4). Наличие α7-субъединицы в составе н-АХР, присутствующего на мембране клеток НМС-1, было продемонстрировано в ряде работ [14, 15]. После предварительной обработки клеток блокаторами н-АХР в реакционную смесь поочередно с интервалом в 30 минут мы вводили Cch и agg Ig G.

Результаты показали, что предварительная обработка тучных клеток линии НМС-1 блокаторами н-АХР снижала Cch-индуцированное высвобождение гистамина (рис. 4). Влияние бунгаротоксина, блокатора α7-субъединицы н-АХР, было статистически значимым (p < 0,05). BTX достоверно снижал уровень гистамина, выделившийся в ответ на стимуляцию клеток НМС-1 холиномиметиком Cch, а также отменял ингибирующий эффект Cch на IgG-зависимую дегрануляцию тучных клеток (рис. 4). Предварительная обработка клеток НМС-1 с помощью Hex, неселективного блокатора н-АХР, также отменяла либерацию гистамина, вызванную Cch, хотя и не антагонизировала влиянию холиномиметика на IgG-опосредованную дегрануляцию этих клеток (рис. 4).

Мы также оценили действие холинергических агентов на высвобождение одного из медиаторов, синтезируемых в тучных клетках линии НМС-1 *de novo*. Так, Cch частично стимулировал клетки линии НМС-1 к выбросу интерлейкина-4 и при этом достоверно ингибировал IgG-индуцированное высвобождение цитокина (рис. 5). BTX, блокатор α7-субъединицы н-АХР, проявлял тенденцию к отмене подавляющего действия Cch на IgG-зависимую активацию тучных клеток линии НМС-1 (рис. 5).

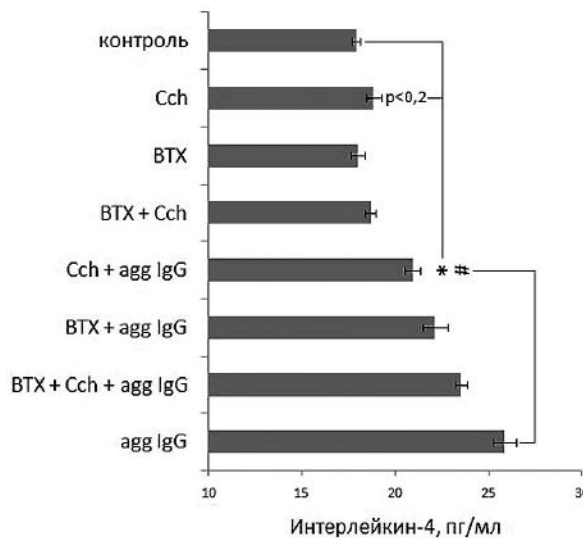


Рис. 5. Концентрация ИЛ-4 в супернатантах тучных клеток линии НМС-1, полученных в условиях одиночного и комбинированного воздействия карбахола, α-бунгаротоксина и агрегированного IgG человека.

По оси ординат – стимулирующие агенты, по оси абсцисс – концентрация ИЛ-4 в супернатантах клеток, пг/мл. Достоверность отличия от контроля: * – p < 0,05. Достоверность отличия от agg IgG: # – 0,05. Сокращения: Cch – карбахол, agg IgG – агрегированный IgG, BTX – α-бунгаротоксин.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные нами данные свидетельствуют о наличии у Sсh свойств либератора гистамина. В то же время наше исследование показало, что воздействие этого холиномиметика на IgG-индуцированный ответ тучных клеток линии НМС-1 является ингибирующим, что соответствует концепции о противовоспалительной функции парасимпатической нервной системы и ее медиаторов. Такой двойственный характер регуляции активности мастоцитов, по всей видимости, указывает на наличие так называемого холинергического тонуса, который поддерживает возбуждение тучных клеток на определенном уровне.

Активация тучных клеток линии НМС-1 в ответ на применение холинергических препаратов была показана и ранее в предшествующих исследованиях нашей лаборатории [16, 17], а также в зарубежных источниках литературы [15]. Гистамин-либерирующие свойства применяемого в нашей работе холиномиметика Sсh проявлялись и по отношению к базофилам крови человека [18–21].

В связи с методическими трудностями получения тучных клеток человека, в большинстве экспериментальных работ, направленных на изучение биологии тучных клеток, в качестве клеточного материала используют мастоциты грызунов. Холинергическая иннервация человеческих мастоцитов рассматривалась на модели тучных клеток слизистой оболочки дыхательных путей [Reinheimer, 1997; Reinheimer, 2000]. Для этого использовали фрагменты бронхов здоровых доноров, изолированные после лобэктомии. Было показано ингибирующее влияние АХ на дегрануляцию тучных клеток, вызванную кальциевым ионофором А23187. Данная супрессия отменялась при применении пирензепина – антагониста М1-АХР. Авторы данной работы, однако, отмечают, что их наблюдения по обнаружению ингибирующего мускаринового звена в дыхательных путях человека контрастируют с выводами о механизмах влияния АХ на функциональную активность тучных клеток других систем организма.

Несмотря на то, что линия клеток НМС-1 является моделью тучных клеток человека, подобной мускариновой ингибиции в нашей работе не наблюдалось. Описанные в литературе исследования, выполненные на линии НМС-1, сопоставимы с нашими результатами. Так, в работе J. Radosa и соавт. применение атропина

в сопоставимой концентрации не отменяло высвобождение гистамина тучными клетками линии НМС-1, вызванное АХ, в то время как никотиновые холинолитики блокировали АХ-зависимую дегрануляцию [15].

Результаты работы способствуют углублению представлений о механизмах негативной регуляции функциональной активности тучных клеток холинергической нервной системой и, как следствие, всего воспалительного процесса.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/REFERENCES

1. *Быков В. Л.* Цитология и общая гистология. Сотис, СПб, 2007, 519 с. [Bykov V. L. Cytology and General Histology. St. Petersburg: Sotis, 2007, 519 p.]
2. *Gilfillan A. M., Austin S. J., Metcalfe D. D.* Mast cell biology: introduction and overview. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2011, 716, 2–12.
3. *Bauer O., Razin E.* Mast cell-nerve interactions. *News Physiol. Sci.* 2000, 15, 213–18.
4. *Kleij H. P., Bienenstock J.* Significance of conversation between mast cells and nerves. *Allergy Asthma Clin. Immunol.* 2005, 1 (2), 65–80.
5. *Forsythe P., Bienenstock J.* The mast cell-nerve functional unit: a key component of physiologic and pathophysiologic response. *Chem. Immunol. Allergy* 2012, 98, 196–221.
6. *Moon T. C., St Laurent C. D., Morris K. E., Marcet C., Yoshimura T., Sekar Y., Befus A. D.* Advances in mast cell biology: new understanding of heterogeneity and function. *Mucosal Immunol.* 2010, 3 (2), 111–28.
7. *Guzman-Mejia F., Lopez-Rubalcava C., Gonzalez-Espinosa C.* Stimulation of nAChR α 7 receptor inhibits TNF synthesis and secretion in response to LPS treatment of mast cells by targeting ERK1/2 and TACE activation. *J. Neuroimmune Pharmacol.* 2018, 13 (1), 39–52.
8. *Tore F., Tuncel N.* Mast cells: target and source of neuropeptides. *Curr. Pharm. Des.* 2009, 15 (29), 3433–3445.
9. *Borovikova L. V., Ivanova S., Zhang M., Yang H., Botchkina G. I., Watkins L. R., Wang H., Abumrad N., Eaton J. W., Tracey K. J.* Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. *Nature* 2000, 405 (6785), 458–462.
10. *Tracey K. J.* The inflammatory reflex. *Nature* 2002, 420 (6917), 853–859.
11. *Wang H., Liao H., Ochani M., Justiniani M., Lin X., Yang L., Al-Abed Y., Wang H., Metz C., Miller E. J., Tracey K. J., Ulloa L.* Cholinergic agonists inhibit HMGB1 release and improve survival in experimental sepsis. *Nat. Med.* 2004, 10 (11), 1216–1221.
12. *Huston J. M., Ochani M., Rosas-Ballina M., Liao H., Ochani K., Pavlov V. A., Gallowitsch-Puerta M., Ashok M., Czura C. J., Foxwell B., Tracey K. J., Ulloa L.* Splenectomy inactivates the cholinergic antiinflammatory pathway during lethal endotoxemia and polymicrobial sepsis. *J. Exp. Med.* 2006, 203 (7), 1623–1628.
13. *Shore P. A., Burkhalter A., Jr. Cohn V. H.* A method for the fluorometric assay of histamine in tissues. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1959, 127, 182–186.

14. *Sudheer P. S., Hall J. E., Donev R., Read G., Rowbottom A., Williams P. E.* Nicotinic acetylcholine receptors on basophils and mast cells. *Anaesthesia* 2006, 61(12), 1170–1174.
15. *Radosa J., Dyck W., Goerdt S., Kurzen H.* The cholinergic system in guttate psoriasis with special reference to mast cells. *Exp. Dermatol.* 2011, 20(8), 677–679.
16. *Пронина А. П.* Влияние факторов острой фазы воспаления на активацию базофилов и тучных клеток *in vitro*. Автореф. дисс. канд. биол. наук. СПб 2011, 19 с. [*Pronina A. P.* Influence of acute inflammation phase factors on the activation of basophils and mast cells *in vitro*. Abstract. Dissertation for the degree of Cand. Biol. Sci. St. Petersburg, 2011, 19 с.]
17. *Nazarov P. G., Pronina A. P.* The influence of cholinergic agents on histamine release from HMC-1 human mast cell line stimulated with IgG, C-reactive protein and compound 48/80. *Life Sci* 2012, 91(21–22), 1053–1057.
18. *Пронина А. П., Назаров П. Г.* Активация базофилов крови человека лигандами Fc-гамма-рецепторов: холинергический тюнинг. Цитокины и воспаление 2008, 7(4), 40–46. [*Pronina A. P., Nazarov P. G.* Activation of human blood basophiles by the Fc γ receptor ligands: a cholinergic tuning. *Cytokines and Inflammation* 2008, 7(4), 42–48].
19. *Пронина А. П., Назаров П. Г.* Влияние пентраксинов и агрегированного IgG на выброс гистамина из базофилов человека при блокаде АХ-рецепторов. *Росс. аллергол. журн* 2008, 1(1), 237–238. [*Pronina A. P., Nazarov P. G.* Effect of pentraxines and aggregated IgG on the release of histamine from human basophils in the blockade of acetylcholine receptors. *Russian Allergol. J.* 2008, 1(1), 237–238.]
20. *Nazarov P. G., Pronina A. P., Trulioff A. S.* C-reactive protein: Fc receptor-mediated effects on human peripheral blood basophils. In: *Basophil Granulocytes*. Ed. P. K. Velis. NY: Nova Science Publishers, 2009, 95–121
21. *Nazarov P. G., Pronina A. P., Trulioff A. S.* C-reactive protein: Fc-gamma receptor-mediated effects on human peripheral blood basophils *in vitro*. In: *C-Reactive Protein: New Research*. Ed. S. Nagasawa. NY: Nova Science Publishers, 2009, 147–169.
22. *Reinheimer T., Baumgartner D., Hohle K. D., Racke K., Wessler I.* Acetylcholine via muscarinic receptors inhibits histamine release from human isolated bronchi. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1997, 156(2 Pt 1), 389–395.
23. *Reinheimer T., Mohlig T., Zimmermann S., Hohle K. D., Wessler I.* Muscarinic control of histamine release from airways. Inhibitory M1-receptors in human bronchi but absence in rat trachea. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2000, 162(2 Pt 1), 534–538.

MODULATION OF FUNCTIONAL ACTIVITY OF MAST CELLS BY CHOLINERGIC AGENTS

© 2018 N. A. Kutukova¹, P. G. Nazarov^{1,2}

¹*Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia;*

²*The I. P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia*

Received: 12.05.2018. **Accepted:** 23.06.2018

Being immunocompetent cells, mast cells at the same time have a number of properties characteristic of cells of the nervous system, which is why they are often viewed as key intermediaries between the integrating systems of the body. There is an increasing interest of the scientific community in the anti-inflammatory activity of the parasympathetic nervous system. Despite this, the question of the mechanisms of cholinergic regulation of mast cells has not been studied sufficiently. As a model of mast cells, we used the HMC-1 human mast line cells. The results of our study showed that carbachol (Cch), a functional analog of acetylcholine, simultaneously exhibits properties of the histamine liberator and the suppressor of IgG-induced activation of mast cells. This dual effect of the neurotransmitter may indicate the presence of a cholinergic tone supporting the excitation of mast cells at a certain level. The modulating effect of Cch on the functional activity of HMC-1 cells is realized through nicotinic acetylcholine receptors (n-AChR). The data obtained contribute to deepening the concept of the mechanisms of negative regulation of mast cells.

Key words: human mast cells, acetylcholine, cholinomimetics, cholinolytics, bungarotoxin

Authors:

Kutukova N. A., ✉ research associate, Department of Immunology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia; 197376, St. Petersburg, Akademika Pavlova str., 12. Institute of Experimental Medicine, department of Immunology. Phone: +79111492527, **E-mail:** i_n_a_777@mail.ru;

Nazarov P. G., head of Department of Immunology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia.