

УДК 576.54

ТУЧНЫЕ КЛЕТКИ И КОНТРОЛЬ ТРАНСЭНДОТЕЛИАЛЬНОГО ТРАНСПОРТА. РОЛЬ ГИСТАМИНА

© 2021 г. **П. Г. Назаров**^{1,2}, **О. Н. Мальцева**¹, **Д. А. Таянский**^{1,3, *}, **Е. В. Агеева**¹, **С. С. Лутфуллоева**¹,
А. Д. Денисенко^{1,3}, **П. В. Пигаревский**¹

¹Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, 197376 Россия

²Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,
Санкт-Петербург, 197022 Россия

³Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, 199034 Россия

*E-mail: dmitry.athero@gmail.com

Поступила в редакцию 17.03.2020 г.

После доработки 22.12.2020 г.

Принята к публикации 26.12.2020 г.

Исследовали влияние тучных клеток (ТК) человека (линия МНС-1) на трансэндотелиальный транспорт (ТЭТ) альбумина и липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), используя двухкамерную систему с порами диаметром 1 мкм. Эндотелиальные клетки (ЭК) человека (линия EA.hy926) помещали в верхнюю камеру на подложке из коллагена I типа и выращивали 2–3 сут до формирования визуального монослоя. После этого в верхнюю камеру добавляли 200 мкг/мл ЛПНП и 200 мкг/мл альбумина, а в нижнюю – ТК интактные или активированные агрегированным IgG человека, либо соединением 48/80. ТЭТ белков (прохождение из верхней камеры в нижнюю через монослой ЭК) оценивали через 5 и 24 ч. Оказалось, что присутствие в нижних камерах ТК (интактных, либо активированных) вызывало замедление ТЭТ ЛПНП и альбумина через 24 ч, но не через 5 ч. Транспорт ЛПНП оказался более чувствителен к ингибирующему влиянию ТК, чем транспорт альбумина. Супрессивное действие ТК зависело в основном от гистамина и отменялось блокатором гистаминовых рецепторов H1 (но не H2).

Ключевые слова: эндотелиальные клетки EA.hy926, тучные клетки МНС-1, гистамин, трансэндотелиальный транспорт, липопротеины низкой плотности, альбумин

DOI: 10.31857/S0041377121020061

В последнее время все большее внимание исследователей привлекает роль ТК как источника регуляторных влияний на кровеносные и лимфатические сосуды. В тканях ТК располагаются вокруг кровеносных и лимфатических сосудов и способны вступать в непосредственный контакт с ЭК (Guidolin et al., 2017). Подобно эндотелию, ТК содержат NO-синтазу и продуцируют окись азота (Kritas et al., 2013) и, как предполагается, могут влиять на тонус сосудов и активность эндотелия. Несмотря на близость анатомического расположения сосудов и ТК, функциональные последствия их контактов для обоих типов клеток изучены недостаточно (Kunder et al., 2011; Zhang et al., 2011).

ТК являются одним из основных источников гистамина в организме, выделяя его при активации иммунными комплексами, содержащими иммуно-

глобулин E, либо G (IgG), и многими другими факторами. Известно, что гистамин повышает проницаемость сосудов (Tessier et al., 2007; Kumar et al., 2009). Предполагается, что в сосудах с мышечным слоем механизм сосудорасширяющего действия гистамина реализуется через гладкомышечный слой благодаря расслаблению гладкомышечных волокон и “раздвиганию” клеток эндотелия (Чернух, 1976). Влияние гистамина на эндотелий изучено меньше. Между тем, вопрос о роли тучных клеток и гистамина в регуляции эндотелиальной проницаемости важен для понимания физиологии сосудов в норме и при воспалении. Хорошо известно, что индукция IgG-содержащими иммунными комплексами (в результате взаимодействия с Fcγ-рецепторами) дегрануляции ТК приводит к освобождению большого числа биологически активных веществ, которые являются важнейшими участниками воспалительного процесса. Следовательно, необходимо учитывать потенциал этих клеток врожденного иммунитета в инициации иммунопатологических механизмов, запускаемых таким, почти бытовым, фактором, как иммунные ком-

Принятые сокращения: апоВ – аполипопротеин В; ЛПНП – липопротеины низкой плотности; ТК – тучные клетки; ТЭТ – трансэндотелиальный транспорт; ЭК – эндотелиальные клетки; IgG – иммуноглобулин класса G; PBS – фосфатно-солевой буферный раствор.

плексы, сопровождающие любое инфекционное заболевание, любой иммунный ответ.

Учитывая неодинаковое строение разных анатомических сегментов сосудистой сети (артерий и артериол, вен и венул, лимфатических сосудов), центральным может оказаться вопрос о влиянии ТК и гистамина на проницаемость общего для сосудистой сети эндотелия.

Вопрос о влиянии гистамина на эндотелий неясен. Наряду с многочисленными данными о стимулирующем действии гистамина на проницаемость эндотелия (Tessier et al., 2007; Kumar et al., 2009), есть данные и о его угнетающем действии (Takeda et al., 1992; Lua et al., 2010). Так, у мышей с эндотелий-специфичной сверхэкспрессией гена гистаминового рецептора H1 наблюдали не повышение, а снижение проницаемости гематоэнцефалического барьера при индукции экспериментального аллергического энцефаломиелита (Lua et al., 2010).

Цель настоящей работы – изучить взаимодействие ТК и ЭК *in vitro*, используя модель, в которой клетки находятся в двухкамерном культуральном сосуде: монослой ЭК – в верхней камере на ее пористом дне, ТК – в нижней камере. Исследовали влияние ТК на трансэндотелиальный транспорт (ТЭТ) компонентов плазмы (ЛПНП и альбумина) из верхней камеры в нижнюю.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Клетки. Использовали эндотелиоциты человека линии EA.hy926 и ТК человека перевиваемой линии НМС-1. Клетки линии EA.hy926 с подтвержденным эндотелиальным фенотипом (наличием основного маркера эндотелия фактора фон Виллебранда) получены от д-ра Coqa-Jean S. Edgell (Университет Северной Каролины, США), ТК линии НМС-1 – от д-ра Joseph H. Butterfield (Mayo Clinics, США).

Двухкамерная система. Исследование проводили в 2-камерной системе, верхние камеры которой представляют собой пористые вставки (трансвеллы) с диаметром пор 1 мкм (353104; Costar, США), а нижние – лунки 24-луночного планшета (Sarstedt, Германия), в которых расположены указанные вставки. Вставки предварительно обрабатывали раствором коллагена I типа (Биолот, Россия) (70 мкг/мл в 20 мМ уксусной кислоте) в течение 1 ч при комнатной температуре, далее их промывали фосфатно-солевым буферным раствором (PBS) (Биолот, Россия) и выдерживали в среде DMEM (D6546; Sigma, США), содержащей 10% фетальной телячьей сыворотки (FCS) (HyClone, США), в течение 3 ч в CO₂-инкубаторе (37°C, 5% CO₂).

Ход экспериментов. Вставки засеивали клетками линии EA.hy926, по 10⁵ клеток на вставку. Клетки растили в среде DMEM с 10% FCS при 37°C и 5% CO₂ в течение 2–3 сут до формирования визуального монослоя. Далее монослой ЭК переводили в бессы-

вороточную среду. Для этого клетки предварительно выдерживали в среде DMEM, содержащей 0.5% бычьего сывороточного альбумина (Sigma, США), в течение 1 сут. Затем во вставки добавляли по 200 мкл среды DMEM, содержащей 200 мкг/мл выделенных ЛПНП человека и 200 мкг/мл очищенного альбумина человека (Sigma, США). ЛПНП (1.024–1.055 г/мл) были выделены из донорской плазмы методом последовательного ультрацентрифугирования (Havel et al., 1955) в роторе 70Ti на ультрацентрифуге Beckman Optima L90-K (США). Выделенные ЛПНП диализовали против PBS. Содержание белка в препаратах ЛПНП определяли ВСА-реактивом (Pierce, США).

В нижние камеры вносили по 10⁶ ТК линии НМС-1 на 700 мкл среды. Клетки культивировали на среде IMDM (Iscove's Modified Dulbecco's Medium; Биолот, Россия), содержащей 10% FCS и 1.2 мМ монотиглицерола, в CO₂-инкубаторе (37°C, 5% CO₂). Перед добавлением в нижние камеры ТК предварительно выдерживали в культуральной среде в течение 1 ч в присутствии раствора термоагрегированного (при 63°C, 10 мин) нормального IgG человека (Имтек, Россия), либо с либератором гистамина соединением 48/80 (полимер, произведенный с помощью конденсации из N-метил-p-метоксибензилэтиламина с формальдегидом; Sigma-Aldrich, США) в заранее подобранных оптимальных концентрациях (300 мкг/мл и 20 мкг/мл соответственно). Во избежание преждевременной дегрануляции клеток, нагрузку мембранных рецепторов IgG и веществом 48/80 проводили при 4°C. Контролем служили клетки НМС-1, к которым вместо активаторов добавляли PBS. Затем клетки дважды отмывали холодным PBS и вносили в нижние камеры 2-камерной системы (с монослоем ЭК в верхних) и далее помещали в CO₂-инкубатор.

В ряде экспериментов в верхние камеры добавляли гистамин. Гистамин (Sigma-Aldrich, США) использовали в финальной концентрации 10⁻⁶ М, подобранной предварительно как минимальной и достаточной для получения эффекта. Блокаторы гистаминовых рецепторов H1 и H2 (супрастин (Эгис, Венгрия) и квател (Гедеон Рихтер, Венгрия) соответственно) использовали в концентрации 6.7 мкг/мл, принятой в клинической практике.

Через 5 и 24 ч от начала совместного культивирования ЭК и ТК отбирали по 50 мкл аликвот из нижних камер для определения концентраций аполипопротеина В (апоВ), основного аполипопротеина ЛПНП, и альбумина человека.

Иммуноферментный анализ (ИФА). Концентрацию апоВ в культуральных средах определяли при помощи “сэндвич”-варианта ИФА с использованием нижних поликлональных антител кролика к апоВ человека (ИМТЕК, Россия) в разведении 1 : 500 и конъюгатов антител к апоВ с пероксидазой хрена (Sigma, США), приготовленных по описанному ме-

тоту (Кэтти, Райкундалия, 1991), в разведении 1 : 50. Концентрацию альбумина определяли при помощи прямого варианта ИФА с использованием поликлональных антител кролика к альбумину человека (ИМТЕК, Россия) в разведении 1 : 100000 и конъюгатов козьих антител к кроличьим Ig с пероксидазой хрена (Abscam, США) в разведении 1 : 20000.

Показатель ТЭТ. Показатель ТЭТ макромолекул рассчитывали как отношение количества апоВ или альбумина (нг) в нижней камере к количеству соответствующего белка (нг), добавленного в верхнюю камеру, и выражали в процентах.

Статистическая обработка результатов. Использовали пакет Microsoft Excel. Результаты основаны на данных 4–5 экспериментов, причем на каждое условие эксперимента использовали по 3–4 вставки, т.е. общее число повторов составило 12–16 на 1 точку. Данные представлены в виде средних значений и их ошибок. Достоверность различий оценивали по непарному *t*-критерию Стьюдента. Различия считали достоверными при $P < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Как видно из рис. 1, *Ia–г*, в течение первых 5 ч культивирования присутствие в нижней камере как не активированных, так и активированных ТК не оказывало заметного влияния на ТЭТ альбумина. Количество альбумина, проникшего через монослой ЭК из верхней камеры в нижнюю, было практически одинаковым как в присутствии ТК, так и без них, независимо от того, были ли ТК активированы и чем именно, или нет. Однако через 24 ч совместного культивирования клеток влияние ТК на ТЭТ альбумина становилось вполне очевидным и, как видно на рис. 1, *Iд–з*, практически не зависело от того, активированы ТК или нет. Так, присутствие в системе неактивированных ТК приводило к практически двукратному снижению ТЭТ альбумина по сравнению с культивированием в отсутствие ТК (рис. 1, *Ie*; $P < 0.05$). ТК, активированные агрегированным IgG, либо соединением 48/80, также подавляли ТЭТ альбумина (рис. 1, *Iж, з*; $P < 0.05$).

Факт влияния ТК из нижней камеры системы на эндотелиальный монослой в верхней камере указывает на действие гуморальных посредников. Наиболее вероятным действующим агентом является гистамин – известный продукт ТК, к которому у ЭК клеток линии EA.hy926 есть рецепторы H1 и H2 (Esposito et al., 2011). Для проверки роли гистамина как действующего фактора ТК, ответственного за ингибирование ТЭТ альбумина, мы использовали блокаторы гистаминовых рецепторов H1 и H2 – супрастин и квамател соответственно.

Как видно на рис. 1, *Ie–з*, супрастин во всех случаях снижал ингибирующее действие ТК, как интактных, так и стимулированных агрегированным IgG или соединением 48/80, на ТЭТ альбумина, то-

гда как блокатор H2-рецепторов квамател не оказывал влияния на этот процесс. Полученные данные, во-первых, свидетельствуют о том, что секреторируемый ТК гистамин является, как минимум, основным агентом, если не единственным, посредством которого эти клетки оказывают влияние на ТЭТ альбумина. Кроме того, свое действие на ЭК гистамин осуществляет через H1-рецептор.

Мы также выяснили, каково влияние ТК на ТЭТ ЛПНП. Как следует из рис. 1, *II*, ТК оказывают более сильное влияние на прохождение через эндотелий ЛПНП, чем альбумина. Если в течение 5 ч ТЭТ альбумина был устойчив не только к интактным, но и к активированным ТК, то транспорт ЛПНП на этом раннем сроке уже демонстрировал высокую чувствительность к влиянию ТК, хотя только активированных IgG или соединением 48/80 (рис. 1, *IIв, г*).

Через 24 ч совместного культивирования отчетливое подавление ТЭТ ЛПНП вызывали уже не только активированные, но и интактные ТК (рис. 1 *Ile–з*). Снижение транспорта ЛПНП ($P < 0.05$) частично отменялось блокатором гистаминовых рецепторов H1 супрастином, но не блокатором H2-рецепторов квамателом (рис. 1, *Ile–з*). Это однозначно указывает на участие H1-рецепторов в обеспечении чувствительности механизмов ТЭТ альбумина и ЛПНП к гистамину тучных клеток.

Сводные сравнительные данные по ТЭТ альбумина и ЛПНП через 24 ч культивирования представлены на рис. 2. Видно, что скорость ТЭТ альбумина значительно выше, чем ЛПНП: количество проникшего в нижнюю камеру альбумина в пять раз больше (приблизительно 15%), чем ЛПНП (около 3%). В присутствии ТК транспорт и альбумина, и ЛПНП снижается. Влияние ТК на транспорт апоВ-содержащих ЛПНП значительно сильнее, чем на транспорт альбумина ($P < 0.05$) (рис. 2).

Для дополнительной идентификации гистамина как молекулы, обеспечивающей супрессивные эффекты ТК на ТЭТ макромолекул, исследовали влияние гистамина на ТЭТ ЛПНП в той же двухкамерной системе, где в верхней камере по-прежнему находился монослой клеток EA.hy926, а в нижней – только среда. Гистамин в разных концентрациях вносили в среду верхней камеры с эндотелием (рис. 3). Как следует из рис. 3, действие гистамина проявляется через 24 ч ($P < 0.05$) и выражается подавлением ТЭТ апоВ-содержащих ЛПНП (через 1 ч эффект не замечен). Это совпадает с описанной выше супрастин-чувствительной супрессией транспорта ЛПНП, вызываемой ТК. Как и в экспериментах с ТК, супрессивный эффект гистамина отменялся блокатором рецепторов H1, но не H2.

ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что эндотелиальная дисфункция играет существенную роль в патогенезе атеросклероза и

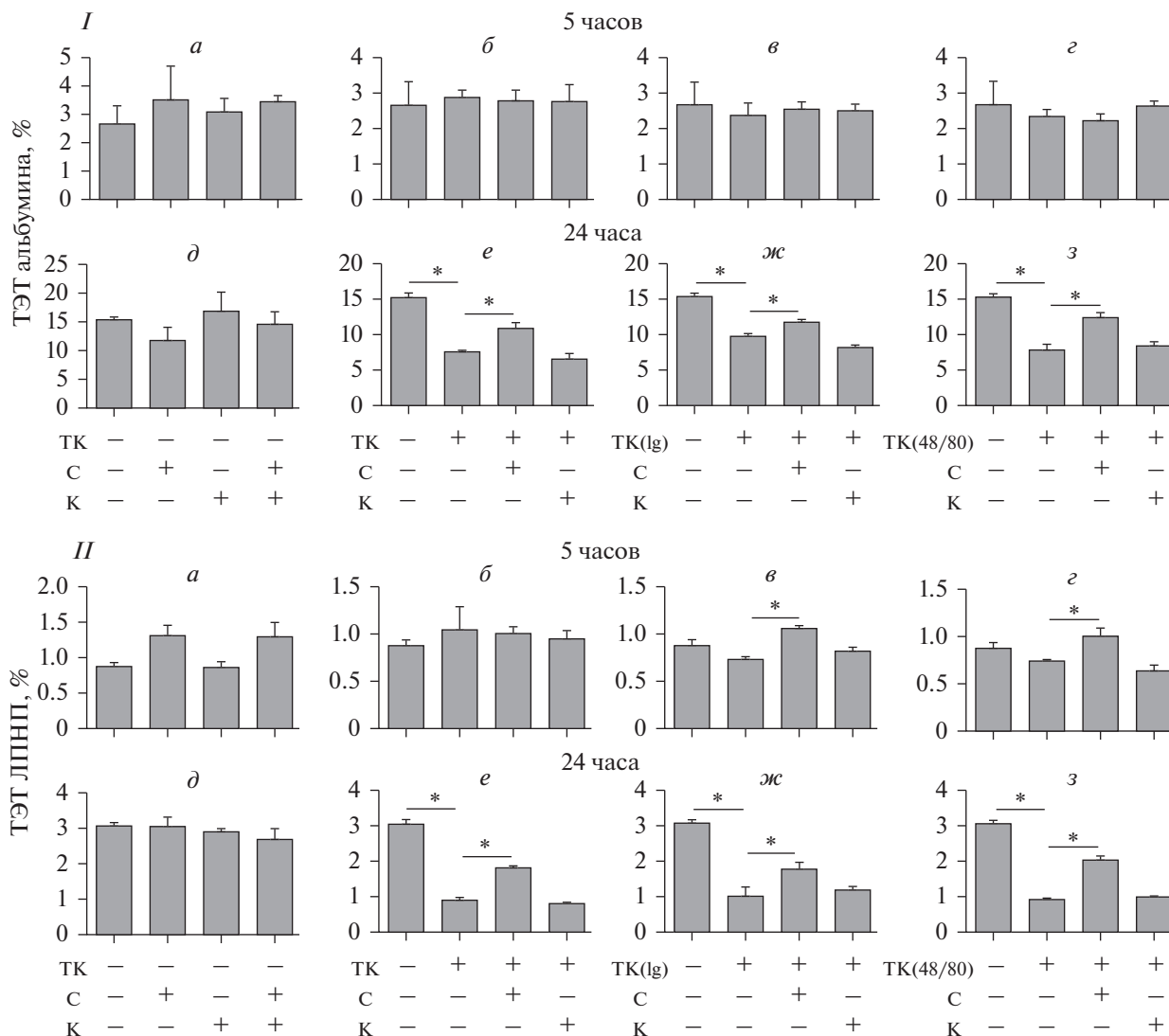


Рис. 1. Влияние тучных клеток (ТК) на трансэндотелиальный транспорт (ТЭТ) альбумина (I) и ЛПНП (II) и его зависимость от гистамина и гистаминовых рецепторов Н1 и Н2. ТЭТ оценивали через 5 (а–г) и 24 (д–з) ч культивирования в отсутствие (а, д) или в присутствии не активированных ТК (б, е), либо ТК, активированных агрегированным иммуноглобулином G (Iг; в, ж) или соединением 48/80 (з, з). Супрастин (С) и кватател (К) использовали в качестве блокаторов Н1- и Н2-рецепторов соответственно. Здесь и на рис. 2, 3 представлены средние значения и их ошибки (вертикальные отрезки); достоверность различий при $P < 0.05$ показана звездочкой.

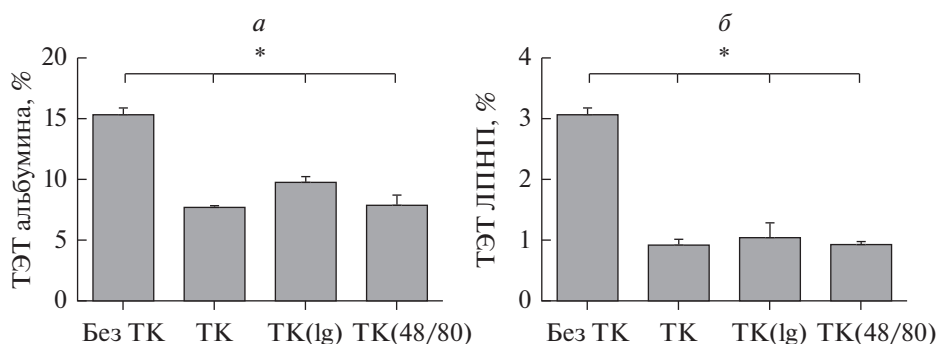


Рис. 2. Влияние тучных клеток (ТК), не активированных, либо активированных агрегированным иммуноглобулином G (Iг) или соединением 48/80, на трансэндотелиальный транспорт (ТЭТ) альбумина (а) и ЛПНП (б). ТЭТ оценивали через 24 ч культивирования.

характеризуется дисбалансом между факторами релаксации и сокращения, прокоагулянтными и антикоагулянтными субстанциями, а также между провоспалительными и противовоспалительными медиаторами (Poredos, 2001). Основными факторами эндотелиальной дисфункции, способствующей атерогенезу, считают чрезмерную продукцию супероксидных анионов, экспрессию эндотелиальными клетками молекул адгезии и увеличение адгезии моноцитов и макрофагов, а также повышение проницаемости эндотелиального слоя. Ранее нами показано, что факторы воспаления, связанные с развитием атеросклероза, такие как провоспалительный цитокин TNF α и С-реактивный белок, стимулируют прохождение ЛПНП через эндотелиальный монослой (Назаров и др., 2015).

ТК располагаются вокруг небольших сосудов и, как показывают наблюдения, способны вступать в непосредственный контакт с ЭК как *in vitro*, так и *in vivo* (Ohtsuka, 2000; Brill et al., 2004; Kunder et al., 2011). На возможность таких контактов указывают данные о том, что при дегрануляции ТК участки их мембран, несущие, в частности, их маркерный антиген CD63, акцептируются мембранами ЭК и могут быть обнаружены с помощью проточной цитофлуориметрии (Schaefer et al., 2012).

Способность ТК влиять на состояние эндотелия не вызывает сомнения. Большой набор биологически активных веществ, освобождающихся при дегрануляции ТК, включает в себя такие вазоактивные соединения, как гистамин, оксид азота, липидные медиаторы, протеазы и т.д. Так, например, ТК синтезируют и выбрасывают при дегрануляции ренин — фермент, запускающий цепь реакций, ведущих к образованию ангиотензина II. Плейотропный биологически активный пептид ангиотензин II вызывает множественные эффекты, считающиеся проатерогенными: индуцирует генерацию супероксид-анионного радикала, появление на клетках эндотелия адгезионных молекул VCAM-1 и ICAM-1, синтез хемокина MCP-1 (Toba et al., 2006). На проницаемость эндотелия могут влиять и другие вещества, также являющиеся продуктами ТК — катепсин G, триптаза (Sendo et al., 2003). Содержание в крови еще одного вещества, продуцируемого ТК (фермента химазы), коррелирует с числом и величиной атеросклеротических бляшек у людей (Doggrell et al., 2004), что также может быть связано с влиянием этого фермента, прямо или опосредовано, на проникновение ЛПНП в интиму артерий.

Результаты настоящего исследования позволяют заключить, что ТК действительно участвуют в регуляции физиологического состояния сосудов, влияя непосредственно на эндотелий. Причем в наших экспериментах ТК уменьшали ТЭТ альбумина и ЛПНП. Одним из медиаторов, по-видимому основным, влияния ТК на ЭК является гистамин. И действительно, роль гистамина в этом процессе подтверждена нейтрализацией (смягчением) его эффек-

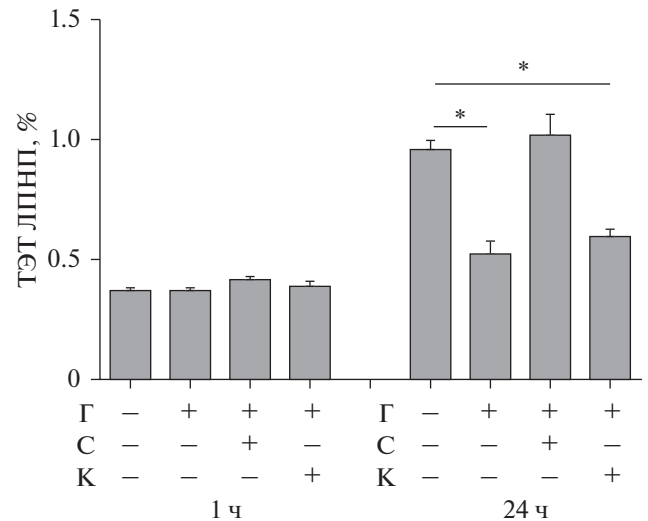


Рис. 3. Влияние гистамина (Г) на трансэндотелиальный транспорт (ТЭТ) ЛПНП. ТЭТ оценивали через 1 и 24 ч культивирования. Супрастин (С) и кветател (К) использовали в качестве блокаторов H1- и H2-рецепторов соответственно.

та с помощью блокатора гистаминовых рецепторов H1. Судя по полученным данным, рецепторы гистамина H2 не участвуют в регуляции проницаемости эндотелия.

Действие гистамина на проницаемость сосудов хорошо известно. Гистамин действует на сосуды через гистаминовые рецепторы H1 и H2 (Ash, Schild, 1966; Ohtsuka, 2000; Brill et al., 2004; McLeod et al., 2005; Esposito et al., 2011). Гистамин, взаимодействуя с рецептором H1, повышает проницаемость венозного эндотелия, как считается, за счет увеличения промежутков между клетками. Через этот рецептор антигистаминные препараты гасят основные сосудистые эффекты гистамина. Хотя действие гистамина кратковременно (около 20 мин), оно может быть пролонгировано в условиях хронического воспаления при непрекращающейся активации пула ТК циркулирующими иммунными комплексами (любыми комплексами, содержащими IgG-антитела и соответствующие антигены).

Несмотря на многолетнюю историю изучения влияния гистамина на состояние эндотелия, к настоящему времени мало что известно о возможности избирательного влияния ТК и их основного медиатора гистамина на проникновение конкретных молекул через монослой ЭК. Особый интерес вызывает изучение влияния гистамина на поступление в сосудистую стенку ЛПНП, накопление которых в интиме артерий является одним из самых ранних событий в атерогенезе. Имеются сведения, что гистамин, действуя через H1-рецепторы способствует развитию экспериментального атеросклероза у мышей с дефицитом аполипопротеина E (Rozenberg et al., 2010), по-видимому, повышая поступление ЛПНП в

интиму аорты. Вместе с тем, имеются весьма убедительные данные, что транцитоз ЛПНП через ЭК является рецептор-опосредованным и не может осуществляться по межклеточным пространствам (см. обзор: Jang et al., 2020). Это позволяет предполагать, что действие гистамина на эндотелий не ограничивается только увеличением межклеточных промежутков.

Среди многих работ, повторяющих и подтверждающих тезис о повышении проницаемости сосудов (и эндотелия) гистамином, имеется только несколько публикаций, в которых показано снижение проницаемости под влиянием гистамина (Takeda et al., 1992; Lua et al., 2010). Кажущееся противоречие между известными данными о гистамине как веществе, повышающем проницаемость сосудов, и результатами настоящего исследования, как нам кажется, убедительно показавшими “эндотелий-уплотняющий” эффект гистамина, скорее всего, объясняется следующими обстоятельствами.

Реакция на гистамин многослойной сосудистой стенки не есть реакция только ее эндотелия, а есть совокупная реакция всех слоев. И если в составе сосуда присутствует гладкомышечный слой, то, скорее всего, именно его мощная реакция будет доминирующей и перекроет реакции других слоев. Наши данные позволяют заключить, что самостоятельная реакция эндотелия на гистамин является реакцией “сжатия”, реакцией “закрытия сосуда”, что при наличии мышечного слоя может составлять компенсаторное противодействие паретической реакции гладкомышечных волокон. Кроме того, весьма вероятно, что характер влияния гистамина на ТЭТ макромолекул может в существенной степени зависеть от физико-химических свойств изучаемых молекул.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 15-04-08009).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Экспериментов с участием животных или людей авторы не проводили.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Кэтти Д., Райкундалия И. 1991. Иммуноферментный анализ. В кн.: Антитела: Методы. М.: Мир. Т. 2. 384 с. (Katie D., Raikundalia I. 1991. Enzyme-linked Immunosorbent assay. In: Antibodies: Methods. М.: Mir. V. 2. 384 p.)
Назаров П.Г., Мальцева О.Н., Танянский Д.А., Агеева Е.В., Бородина Д.В., Денисенко А.Д. 2015. Влияние факторов

воспаления на трансэндотелиальный транспорт липопротеинов сыворотки крови *in vitro*. Цитокины воспаления. Т. 14. № 4. С. 59. (Nazarov P.G., Maliseva O.N., Tanyanskiy D.A., Ageeva E.V., Borodina D.V., Denisenko A.D. 2015. Influence of inflammation factors on transendothelial transport of blood serum lipoproteins *in vitro*. Cytokines and Inflammation (Russ.). V. 14. № 4. P. 59.)

Чернух А.М., Александров П.Н., Алексеев О.В. 1975. Микроциркуляция. М.: Медицина. 456 с. (Chernukh A.M., Aleksandrov P.N., Alekseev O.V. 1975. Microcirculation. М.: Meditsina. 456 p.)

Ash A.S., Schild H.O. 1966. Receptors mediating some actions of histamine. Br. J. Pharmacol. Chemother. V. 27. P. 427. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1966.tb01674.x>

Brill A., Baram D., Sela U., Salamon P., Mekori Y.A., Hershkovich R. 2004. Induction of mast cell interactions with blood vessel wall components by direct contact with intact T cells or T cell membranes *in vitro*. Clin. Exp. Allergy. V. 4. P. 1725. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2004.02093.x>

Doggrell S.A., Wanstall J.C. 2004. Vascular chymase: pathophysiological role and therapeutic potential of inhibition. Cardiovasc. Res. V. 61. P. 653. <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2003.11.029>

Esposito B., Gambarà G., Lewis A.M., Palombi F., D'Alessio A., Taylor L.X., Genazzani A.A., Ziparo E., Galione A., Churchill G.C., Filippini A. 2011. NAADP links histamine H1 receptors to secretion of von Willebrand factor in human endothelial cells. Blood. V. 117. P. 4968. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-02-266338>

Guidolin D., Ruggieri S., Annese T., Tortorella C., Marzullo A., Ribatti D. 2017. Spatial distribution of mast cells around vessels and glands in human gastric carcinoma. Clin. Exp. Med. V. 17. P. 531. <https://doi.org/10.1007/s10238-017-0452-7>

Havel R.J., Eder H.A., Bragdon J.H. 1955. The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. J. Clin. Invest. V. 34. P. 345. <https://doi.org/10.1172/JCI103182>

Jang E., Robert J., Rohrer L., von Eckardstein A., Lee W.L. 2020. Transendothelial transport of lipoproteins. Atherosclerosis. V. 315. P. 111. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2020.09.020>

Kritas S.K., Saggini A., Varvara G., Murmura G., Caraffa A., Antinolfi P., Toniato E., Pantalone A., Neri G., Frydas S., Rosati M., Tei M., Speziali A., Saggini R., Pandolfi F., Cerulli G., Theoharides T.C., Conti P. 2013. Impact of mast cells on the skin. Int. J. Immunopathol. Pharmacol. V. 26. P. 855. <https://doi.org/10.1177/039463201302600403>

Kumar P., Shen Q., Pivetti C.D., Lee E.S., Wu M.H., Yuan S.Y. 2009. Molecular mechanisms of endothelial hyperpermeability: Implications in inflammation. Expert Rev. Mol. Med. V. 11. e19. <https://doi.org/10.1017/S1462399409001112>

Kunder C.A., St. John A.L., Abraham S.N. 2011. Mast cell modulation of the vascular and lymphatic endothelium. Blood. V. 118. P. 5383. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-07-358432>

Lua C., Diehla S.A., Noubadea R., Ledoux J., Nelson M.T., Spacha K., Zachary J.F., Blankenhorn E.P., Teuscher C. 2010. Endothelial histamine H1 receptor signaling reduces blood-brain barrier permeability and susceptibility to au-

- toimmune encephalomyelitis. PNAS. V. 107. P. 18967. <https://doi.org/10.1073/pnas.1008816107>
- McLeod R.L., Mingo G.G., Kreutner W., Hey J.A. 2005. Effect of combined histamine H1 and H3 receptor blockade on cutaneous microvascular permeability elicited by compound 48/80. Life Sci. V. 76. P. 1787. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2004.08.033>
- Ohtsuka T. 2000. Different interaction of mast cells with human endothelial cells and fibroblasts. Eur. J. Dermatol. V. 10. P. 115.
- Poredos P. 2001. Endothelial dysfunction in the pathogenesis of atherosclerosis. Clin. Appl. Thromb. Hemost. V. 7. P. 276. <https://doi.org/10.1177/107602960100700404>
- Rozenberg I., Sluka S.H., Rohrer L., Hofmann J., Becher B., Akhmedov A., Soliz J., Mocharla P., Borén J., Johansen P., Steffel J., Watanabe T., Lüscher T.F., Tanner F.C. 2010. Histamine H1 receptor promotes atherosclerotic lesion formation by increasing vascular permeability for low density lipoproteins. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. V. 30. P. 923. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.109.201079>
- Schaefer T., Zajonz A., Lorentz P., Bohnacker T., Wymann M.P., Schweighoffer T. 2012. Luminal decoration of blood vessels by activated perivascular mast cells in allergic rhinitis. Allergy. V. 67. P. 510. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2012.02790.x>
- Sendo T., Sumimura T., Itoh Y., Goromaru T., Aki K., Yano T., Oike M., Ito Y., Mori S., Nishibori M., Oishi R. 2003. Involvement of proteinase-activated receptor-2 in mast cell tryptase-induced barrier dysfunction in bovine aortic endothelial cells. Cell Signal. V. 15. P. 773. [https://doi.org/10.1016/s0898-6568\(03\)00014-7](https://doi.org/10.1016/s0898-6568(03)00014-7)
- Takeda T., Yamashita Y., Syuji S., Youji M. 1992. Histamine decreases the permeability of an endothelial cell monolayer by stimulating cyclic AMP production through the H2-receptor. J. Cell Sci. V. 101. P. 745.
- Tessier J., Green C., Padgett D., Zhao W., Schwartz L., Hughes M., Hewlett E. 2007. Contributions of histamine, prostanoids, and neurokinins to edema elicited by edema toxin from bacillus anthracis. Infect. Immun. V. 75. P. 1895. <https://doi.org/10.1128/IAI.01632-06>
- Toba H., Gomyo E., Miki S., Shimizu T., Yoshimura A., Inoue R., Sawai N., Tsukamoto R., Asayama J., Kobara M., Nakata T. 2006. Hyperinsulinaemia increases the gene expression of endothelial nitric oxide synthase and the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway in rat aorta. Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. V. 33. P. 40. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2006.04385.x>
- Zhang J., Alcaide P., Liu L., Sun J., He A. 2011. Regulation of endothelial cell adhesion molecule expression by mast cells, macrophages, and neutrophils. PLoS One. 6. e14525. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014525>

Mast Cells in Control of Transendothelial Transport. The Role of Histamine

P. G. Nazarov^{a, b}, O. N. Maltseva^a, D. A. Tanyanskiy^{a, c, *}, E. V. Ageeva^a, S. S. Lutfulloeva^a, A. D. Denisenko^{a, c}, and P. V. Pigarevsky^a

^aInstitute of Experimental Medicine, St. Petersburg, 197376 Russia

^bPavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, 197022 Russia

^cSt. Petersburg State University, St. Petersburg, 199034 Russia

*e-mail: dmitry.athero@gmail.com

The influence of human mast cells (MC) (HMC-1 line) on transendothelial transport of albumin and low-density lipoproteins (LDL) was studied using a two-chamber system with 1- μ m pore size. Human endothelial cells (line EA.hy926) were grown in the upper chamber coated with type I collagen for 2–3 days before forming a visual monolayer. After that, 200 mkg/mL of LDL and 200 mkg/mL of albumin were added to the upper chamber, and MC were added to the lower chamber, either intact or activated by aggregated human IgG or by compound 48/80. Transendothelial transport of proteins (their passage from the upper chamber to the lower chamber) was evaluated after 5 and 24 hours of incubation. In the presence of MC, either intact or activated with aggregated human IgG or compound 48/80, there was a significant decrease in transendothelial transport of albumin and LDL after incubation for 24 hours, but not for 5 hours. The LDL transport was more sensitive to the inhibitory effect of MC than the albumin one. The suppressive effect of MC was dependent mainly on histamine, since it was canceled by the histamine H1 (but not H2) receptor blocker.

Keywords: endothelium, EA.hy926, mast cells HMC-1, histamine, transendothelial transport, low-density lipoproteins, albumin