

КЛЮЧОВІ ФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ У КЛІТИНАХ БРИЖОВИХ ЛІМФАТИЧНИХ ВУЗЛІВ НАЩАДКІВ ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ГЕСТАЦІЙНИМ ДІАБЕТОМ

Ключові функціональні зміни у клітинах брижових лімфатичних вузлів нащадків щурів з експериментальним гестаційним діабетом

Т. М. Прозорова, К. С. Крупей, О. М. Камишний
Запорізький державний медичний університет

Резюме. Гестаційний діабет (ГД) є важливим порушенням обміну речовин, що може впливати на морфогенез органів імунної системи.

Мета дослідження – з'ясувати особливості змін функціонального стану клітин брижових лімфатичних вузлів у нащадків щурів з експериментальним гестаційним діабетом (ЕГД).

Матеріали і методи. Дослідження проведено на 80 нащадках щурів лінії Wistar з ЕГД віком 1 і 6 місяців. Для індукції ЕГД вводили внутрішньочеревно стрептозотоксин (SIGMA Chemical, США) у дозі 45 мг/кг. Для ідентифікації TLR2, TLR4, NOD2, RIGI, T-bet, Nlrp3, RORyt і Foxp3 у гістологічних зрізах лімфатичних вузлів застосовували імунофлюоресцентний метод. Для дослідження експресії мРНК генів Aire, Deaf1, Foxp3, IL10, Ctla4, Cxcr4, Ccr7, Madcam1, S1pr1 використовували метод полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією в режимі реального часу.

Результати. Встановлено комплекс ключових патологічних і функціональних змін у клітинах брижових лімфатичних вузлів (БЛВ) у нащадків щурів з ЕГД: зміни експресії регуляторів рециркуляції і хоумінгу лімфоцитів; порушення формування периферичної імунологічної толерантності; активація патернрозпізнавальних рецепторів уродженої імунної системи на лімфоцитах БЛВ; зміни розподілу ефекторних Т-клітин в БЛВ.

Висновки. Пренатальна гіперглікемія призводить до посилення прозапальної сигналізації та активації компонентів уродженої імунної системи більш виразно на 1 місяці життя.

Ключові слова: експериментальний гестаційний діабет; брижові лімфатичні вузли; уроджений імунітет.

ВСТУП

Гестаційний діабет (ГД) є важливим порушенням обміну речовин, що виявляється у 2–6 % всіх вагітностей та значно підвищує ризики матері та

Key functional changes in mesenteric lymphatic node cells in the posterity of rats with experimental gestational diabetes

Т. М. Prozorova, K. S. Krupey, O. M. Kamyshnyi
Zaporizhzhia State Medical University

e-mail: prozorova_t@i.ua

Summary. Gestational diabetes (GD) is an important metabolic disorder that can affect the morphogenesis of the immune system.

The aim of the study – to find out the peculiarities of mesenteric lymph nodes cells functional state in the posterity of rats with experimental gestational diabetes (EGD).

Materials and Methods. Studies were performed on 80 posterity of Wistar rats with EGD at 1 and 6 months of age. For the induction of EGD streptozotocin (SIGMA Chemical, USA) was administered intraperitoneally at a dose of 45 mg/kg. For identification of TLR2, TLR4, NOD2, RIGI, T-bet, Nlrp3, RORyt and Foxp3 in histological sections of lymph nodes immunofluorescence method was used. To study the mRNA expression of Aire, Deaf1, Foxp3, IL10, Ctla4, Cxcr4, Ccr7, Madcam1, S1pr1 genes, a real-time reverse transcription polymerase chain reaction method was used.

Results. The complex of key pathophysiological and functional changes in cells of mesenteric lymph nodes (MLN) in the posterity of rats with EGD was established: changes in the expression of lymphocyte recycling regulators and homemaking; impaired formation of peripheral immunological tolerance; activation of patterns of recognition receptors of the innate immune system on MLN lymphocytes; changes in the distribution of effector T cells in MLN.

Conclusions. Prenatal hyperglycemia leads to increased proinflammatory signaling and activation of innate immune system components more clearly at 1 month of life.

Key words: experimental gestational diabetes; mesenteric lymph nodes; innate immunity.

плода [1]. При цьому вплив ГД простягається далеко за межі перинатального періоду і віддалено впливає на розвиток ожиріння і діабету 2 типу. Вагітність у нормі викликає зміни імунного статусу в

напрямку імуносупресії, проте у жінок із ГД спостерігається збільшення маркерів активації Т-лімфоцитів, самих Т-клітин та дефіцит цитотоксичного Т-лімфоцитасоційованого протеїну 4 (CTLA-4). Тобто інтранатальна гіперглікемія, що розвивається за умови ГД, може впливати на морфогенез органів імунної системи [2, 3].

Формування імунологічної толерантності до власних антигенів (Ag) є важливим механізмом, що попереджує розвиток аутоімунних захворювань (AI3) [4]. В останні роки було розроблено екстратимічну експресію цілого ряду периферичних тканинносPECIFIC антигенів (peripheral tissue-specific antigens, PTSAs), у тому числі таких панкреатичних Ag, як інсулін та проінсулін, регулятором ектопічної транскрипції яких є аутоімунний регулятор (Aire) [5]. Численні екстратимічні Aire-експресуючі клітини (extrathymic Aire-expressing cells, eTACs) локалізуються у лімфатичних вузлах (ЛВ) та є одним із критичних факторів формування периферичної імунної толерантності (ПІТ) [6]. Клітини строми ЛВ експресують PTSAs, однак регулюється їх експресія не лише eTACs, а й транскрипційним регулятором Deaf1 (deformed autoregulatory factor 1) [7]. У свою чергу, Aire та Deaf1 є регуляторами диференціювання ще одного учасника негативного контролю розвитку AI3 – індукцйбельних Т-регуляторних клітин (iTreg), експресуючих транскрипційний фактор Foxp3 [8]. Дія iTreg реалізується через продукцію супресорних цитокінів – IL10, IL13, IL35, TGF β та залежить від експресії CTLA-4 [9]. Так, стромальні Deaf1-експресуючі клітини брижових лімфатичних вузлів (БЛВ) продукують ретиноеву кислоту, яка сприяє розвитку Foxp3⁺-регуляторних Т-клітин [10], а Yang S. Et al. показали здатність Aire генерувати у перинатальний період особливу популяцію Foxp3⁺Treg-клітин, яка стійко зберігається у дорослих мишей також [11]. Місце експонування Ag має вирішальне значення для підтипу регуляторних Т-клітин і механізму індукції толерантності [12].

Метою дослідження було з'ясувати особливості змін функціонального стану клітин брижових лімфатичних вузлів у нащадків щурів з експериментальним гестаційним діабетом (ЕГД) за допомогою імуофлюоресцентних і молекулярно-генетичних методів.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Дослідження проведено на 80 нащадках щурів лінії Wistar віком 1 і 6 місяців. Тварини перебували в умовах природного освітлення при вільному доступі до води та їжі на віварії Запорізького державного медичного університету.

Для індукції експериментального гестаційного діабету (ЕГД) стрептозоточин (SIGMA Chemical,

США) вводили щурам внутрішньочеревно у дозі 45 мг/кг, розчиненому у 0,5 мл 0,1 М цитратному буфері (рН=4,5) на 14–15 добу датованої вагітності щура, що відповідає останньому триместру вагітності [13]. На 2–3 добу після введення стрептозоточину в усіх самок після 10-годинного голодування визначали вміст глюкози у крові з хвостової вени глюкозооксидазним методом. В експеримент відбирали тварин із рівнем глікемії більше 8 ммоль/л.

Експериментальних тварин поділили на 4 групи: перша група – нащадки контрольних щурів лінії Wistar віком 1 місяць (n=20); друга група – нащадки контрольних тварин лінії Wistar віком 6 місяців (n=20); третя група – нащадки щурів лінії Wistar з ЕГД віком 1 місяць (n=20); четверта група – нащадки щурів лінії Wistar з ЕГД віком 6 місяців (n=20).

Для ідентифікації TLR2 і TLR4 у гістологічних зрізах БЛВ застосовували прямий імуофлюоресцентний метод із використанням моноклональних антитіл, кон'югованих з флюоресцеїну ізотіоціанатом (FITC). Для ідентифікації NOD2, RIGI, T-bet, Nlrp3, RORyt і Foxp3 у гістологічних зрізах ПЛВ застосовували непрямий імуофлюоресцентний метод із застосуванням відповідних поліклональних антитіл. Структуру популяції імунопозитивних клітин вивчали на основі аналізу серійних гістологічних зрізів і даних їх морфометричних та денситометричних характеристик, за допомогою комп'ютерної програми Image J (NIH, США). Зображення отримували на мікроскопі PrimoStar (ZEISS, Німеччина) в ультрафіолетовому спектрі збудження 390 нм (для FITC) за допомогою високочутливої камери AxioCam 5c (ZEISS, Німеччина) і пакета програм для отримання, архівування та підготування зображень до публікації AxioVision 4.7.2 (ZEISS, Німеччина). Вивчали імунопозитивні клітини, розташовані у паракортикальній зоні й мозкових тяжках БЛВ.

Для дослідження експресії мРНК генів *Aire*, *Deaf1*, *Foxp3*, *IL10*, *Ctla4*, *Cxcr4*, *Ccr7*, *Madcam1*, *S1pr1* використовували метод полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією в режимі реального часу (ЗТ-ПЛР-РЧ) і застосуванням ампліфікатора CFX96™ Real-Time PCR Detection Systems з програмним забезпеченням CFX Manager™ (Bio-Rad, США). Використовували архівний гістологічний матеріал (парафінові блоки) віком 3 роки. Тотальну РНК отримували з гістологічних зрізів завтовшки 15 мкм, для цього проводили їх попередню депарафінізацію у ксилолі та регідратацію в низхідних концентраціях етанолу (100; 96; 70 %). Підготовлені зразки гомогенізували, поміщали в пробірки «Ахуген» (США), проводили додаткову депарафінізацію і повторну регідратацію тканин, згідно з протоколом дослідження. Виділення тотальної РНК виконували із використанням набору «Trizol RNA Prep 100» («ИЗО-

ГЕН», РФ), для синтезу кДНК проводили реакцію зворотної транскрипції із використанням набору ОТ-1 фірми «Синтол» (РФ). Молекулярно-генетичні дослідження рівня експресії мРНК генів здійснювали за допомогою ампліфікатора CFX96™Real-Time PCR Detection Systems («Bio-Rad Laboratories, Inc.», США) і набору реактивів Maxima SYBR Green/ROX qPCR MasterMix (2X) (ThermoScientific, США). Специфічні пари праймерів для аналізу досліджуваних і референсного генів були підібрані за допомогою програмного забезпечення PrimerBlast (www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast) та виготовлені фірмами Metabion (Німеччина) і ThermoScientific (США). В якості референс-гена для визначення відносного значення зміни рівня експресії досліджуваних генів було використано ген гліцеральдегід-3-фосфат дегідрогенази (*GAPDH*). Відносну нормалізовану кількість кДНК таргетних генів визначали за методом $\Delta\Delta$ Ct. Статистичний аналіз даних ПЛР проводили за допомогою програмного забезпечення CFX Manager™ (Bio-Rad, США). В експеримент були включені негативні контролю: без додавання кДНК матриці в реакцію ПЛР, без додавання мРНК матриці у синтезі кДНК, без додавання фермента в синтезі кДНК. Усі реакції ампліфікації виконували на індивідуальних зразках у трьох повторях.

Одержані експериментальні дані обробляли на персональному комп'ютері за допомогою ліцензійного статистичного пакета «Statistica for Windows 6.0» (StatSoftInc., №AXXR712D833214FAN5). Для усіх показників розраховували значення середньої арифметичної вибірки (M), її дисперсії і помилки середньої (m). При порівнянні даних використовували параметричний t -критерій Стьюдента, після чого визначали можливість різниці вибірок (p) і довірчий інтервал середньої. При перевірці статистичних гіпотез нульову гіпотезу відкидали при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

У результаті проведеного дослідження встановлено, що у нащадків щурів з ЕГД спостерігається значне зниження вмісту мРНК аутоімунного регулятора (у 8,1 раза ($p < 0,05$) у 1-місячних та у 2,3 раза ($p < 0,05$) у 6-місячних тварин порівняно з контролем. Вміст мРНК транскрипційного регулятора *Deaf1* у 1-місячних нащадків достовірно не змінився, а у 6-місячних спостерігалось його зменшення у 9,2 раза ($p < 0,05$). Що стосується вмісту мРНК транскрипційного фактора *Foxp3*, то у 1-місячних щурів цієї групи виявлено його зменшення у 50,0 разів ($p < 0,05$), а у 6-місячних – у 2,5 раза ($p < 0,05$) порівняно з контролем.

Наступним етапом стало визначення кількісного рівня транскриптів генів-регуляторів рециркуляції і хоумінгу лімфоцитів *Madcam1*, *S1pr1*, *Cxcr4* і *CCR7*, а також характеру експресії мРНК NLRP3-інфламасоми і розподілу NLRP3⁺-клітин в БЛВ у

нащадків щурів з ЕГД. Ми з'ясували, що у нащадків щурів з ЕГД спостерігається значне збільшення вмісту мРНК гена *Ccr7* – у 26,8 раза у 1-місячних та у 21,0 разів у 6-місячних. Що стосується вмісту мРНК рецептора *Cxcr4*, то в обох вікових групах він достовірно не змінився. Відносна нормалізована кількість мРНК адресину *MAdCAM-1* у 1-місячних зросла у 2,4 раза, а у 6-місячних – у 2,3 раза. При дослідженні експресії гена *S1pr1* були отримані такі результати: у першій віковій групі вміст мРНК *S1PR1* збільшився у 3,6 раза, у 6-місячних тварин цей показник зріс у 5,0 разів.

Відомо, що брижові лімфатичні вузли (БЛВ) є головним місцем індукції периферичної імунологічної толерантності до різноманітних антигенів, у тому числі й панкреатичних [14]. Крім того, БЛВ є головним «перехідним» пунктом для пулу рециркулюючих лімфоцитів кишковоасоційованої лімфоїдної тканини. Головними регуляторами «роумінгу» лімфоцитів у БЛВ є адресин *MAdCAM-1*, хемокінові рецептори *CXCR4* і *CCR7* [15]. У свою чергу, вихід лімфоцитів із БЛВ регулюється сфінгозин-1-фосфат (*S1P*) рецепторами (*S1PR1-S1PR5*) [16], серед яких лімфоцитами найбільш активно експресується 1 тип – *S1PR1* [17]. Після активації імунних клітин у БЛВ експресія *S1PR1* на їх мембрані зростає, що дозволяє лімфоцитам відповідати на градієнт *S1P* і залишати лімфатичні вузли [18].

CCR7-опосередковані сигнали впливають на T -клітинний гомеостаз у лімфатичних вузлах на різних рівнях, а також на активацію і поляризацію різних субпопуляцій T -хелперів [19]. Так, *CCR7* відіграє важливу роль у функціонуванні T -регуляторних клітин, виконуючи при цьому подвійну роль: для індукованих T_{reg} експресія *CCR7* необхідна для їх ефективного праймування в ЛВ [20]; у той час як «ефекторні» T_{regs} , вочевидь, використовують *CCR7* для виходу з тканин і тому *CCR7* обмежує їх надмірне накопичення у периферійних тканинах [21].

Виявлене нами збільшення рівня мРНК ще одного з регуляторів "хоумінгу" лімфоцитів - *MAdCAM-1* в БЛВ, яке ми виявили, підтвердили й інші дослідження, в яких показано, що РНК транскрипти *MAdCAM-1* добре експресуються в ендотелії як лімфоїдної, так і нелімфоїдних тканин, зокрема у тонкій і товстій кишках, мезентеріальних і панкреатичних лімфовузлах, селезінці [22]. Даних про експресію *MAdCAM-1* у БЛВ у нащадків з ЕГД немає. Відомо лише, що адгезія лімфоцитів, що регулюється системою $\alpha 4\beta 7$ інтегрин/*MAdCAM-1*, вкрай важлива для міграції В-клітин у панкреатичні лімфатичні вузли (ПЛВ) у діабетичних мишей без ожиріння (NOD). Так, В-лімфоцити з ПЛВ 3–4-тижневих NOD-мишей характеризуються високим рівнем експресії інтегрину $\alpha 4$, LFA-1 і проміжним рівнем інтегрину $\beta 7$. В дослідженні *in vivo* було показано, що В-клітини мігру-

вали з кровотоку в ПЛВ більш ефективно, ніж в периферичні ЛВ. Крім того, антитіла до MAdCAM-1 і інтегрину $\alpha 4\beta 7$ пригнічували міграцію більш ніж 90 % В-лімфоцитів в ПЛВ [23].

Розвиток ЕГД супроводжувався транскрипційною індукцією гена *Nlrp3* у БЛВ у нащадків, рівень мРНК якого зріс у 5,0 разів ($p < 0,05$) у 1-місячних і в 3,0 рази ($p < 0,05$) у 6-місячних тварин. У нащадків щурів з ЕГД також зростає щільність популяції $NLRP3^+$ -лімфоцитів у БЛВ, більш виразно на ранніх термінах спостереження.

Аналіз розподілу рецепторів уродженого імунітету показав, що пренатальна гіперглікемія призводить до зростання кількості $TLR2^+$, $TLR4^+$, $NOD2^+$ і $RIGI^+$ -лімфоцитів у БЛВ в нащадків, більш виразно на 1 місяць життя, змінює щільність ПРР на імунних

клітинах. В умовах формування оральної толерантності до інсуліну в 1-місячних нащадків у кірковому плато БЛВ зменшується чисельність $TLR2^+$ - і $TLR4^+$ -лімфоцитів, у мозкових тяжах – $TLR2^+$ - і $RIGI^+$ -клітин. Динаміка щодо зменшення кількості клітин, імунопозитивних до ПРР у кірковому плато БЛВ зберігається до 6-місячного віку, супроводжується переважним зменшенням щільності мембранних і концентрації цитоплазматичних РВІ в обох вікових групах, насамперед у лімфобластів.

Ми показали, що пренатальна гіперглікемія призводить до зростання кількості $T\text{-bet}^+$ - і $ROR\gamma^+$ -лімфоцитів у БЛВ в нащадків, більш виразно на 1 місяць життя, а також призводить до зменшення кількості $Foxp3^+$ -лімфоцитів та змінює щільність ПРР на імунних клітинах (рис.).

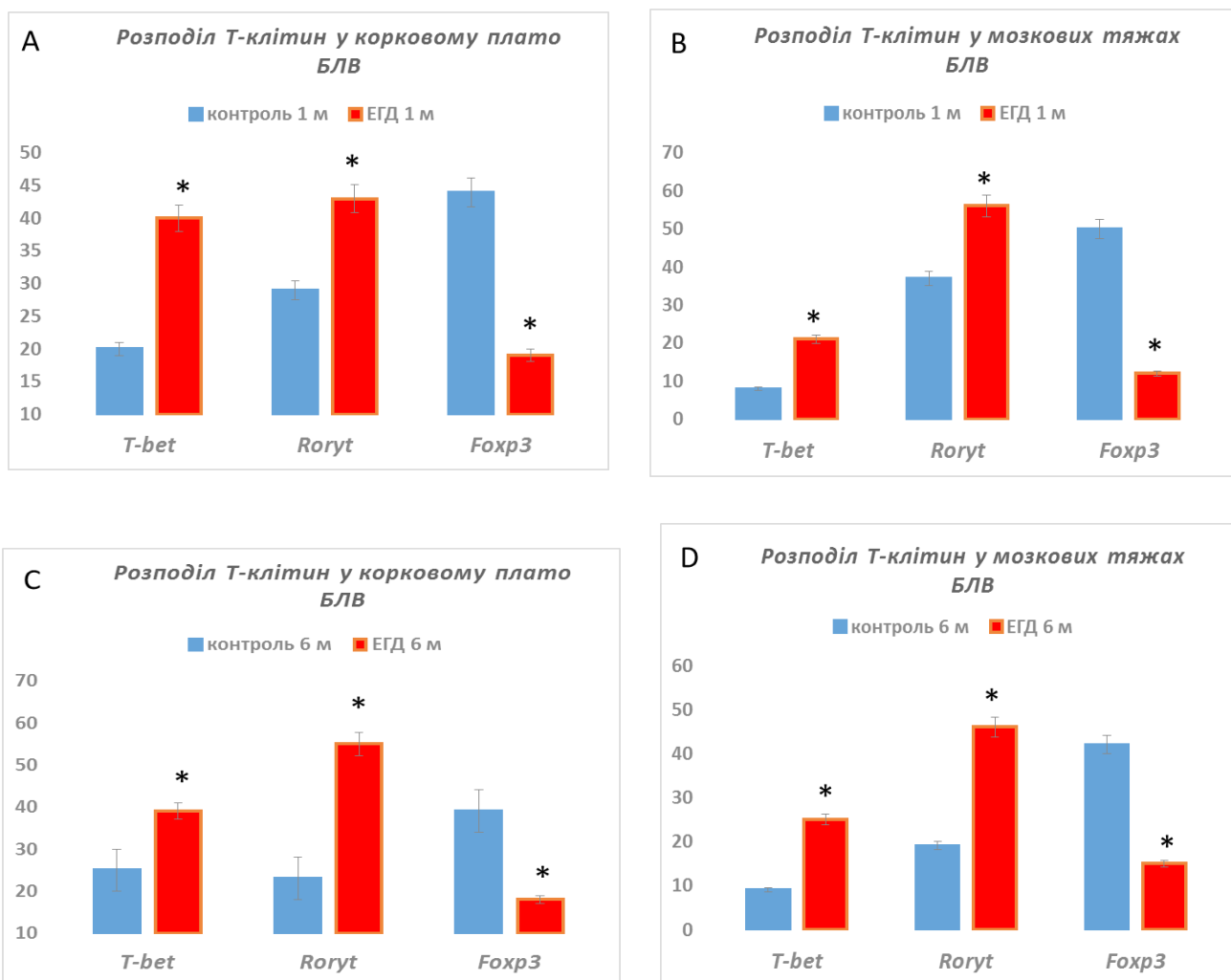


Рис. Сумарна щільність (на 1мм^2) імунопозитивних лімфоцитів у кірковому плато (A, C) та мозкових тяжах (B, D) брижових лімфатичних вузлах у нащадків щурів лінії Wistar.

Примітка. * – $p < 0,05$.

ВИСНОВКИ

Ми виявили цілий комплекс ключових патофізіологічних і функціональних змін у клітинах брижо-

вих лімфатичних вузлів (БЛВ) у нащадків щурів з експериментальним гестаційним діабетом: зміни експресії регуляторів рециркуляції і хоумінгу лім-

фоцитів; порушення формування периферичної імунологічної толерантності; активація патернрозпізнавальних рецепторів уродженої імунної системи на лімфоцитах БЛВ; зміни розподілу ефектор-

них Т-клітин у БЛВ. Отже, пренатальна гіперглікемія призводить до посилення прозапальної сигналізації та активації компонентів уродженої імунної системи більш виразно на 1 місяць життя.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Eades C. E. Prevalence of gestational diabetes mellitus in Europe: A meta-analysis / C. E. Eades, D. M. Cameron, J. M. Evans // *Diabetes Res. Clin. Pract.* – 2017. – Vol. 129. – P. 173–181.
2. Innate immune responses to toll-like receptor stimulation are altered during the course of pregnancy / S. M. Ziegler, C. N. Feldmann, S. H. Hagen [et al.] // *J. Reprod. Immunol.* – 2018. – Vol. 128. – P. 30–37.
3. Prozorova T. M. Effect of experimental gestational diabetes and administration of glibenclamide on mRNA level of NLRP3-inflammasome and distribution of NLRP3⁺-cells in mesenteric lymph nodes in offspring / T. M. Prozorova, V. A. Kamyshna, A. M. Kamyshny // *Pathologia.* – 2017. – Vol. 14 (2). – P. 149–155.
4. Analysis of cytoarchitectonics of TLR2⁺ and TLR4⁺ lymphocytes and transcriptional activity of the genes Gp2, Spi-B, Nf-kB1, c-REL, TNF α and TNFr IN GALT of rats in experimental diabetes mellitus and after pentoxifylline administration / A. S. Degen, G. D. Koval, I. E. Sukhomlinova [et al.] // *Medical Immunology (Russia).* – 2019. – Vol. 21, No. 5. – P. 821–834.
5. Metzger T. Control of central and peripheral tolerance by Aire / T. Metzger, M. Anderson // *Immunol. Rev.* 2011. – Vol. 241, No. 1. – P. 89–103.
6. Peribiliary glands as a niche of extrapancreatic precursors yielding insulin-producing cells in experimental and human diabetes / G. Carpino, R. Puca, V. Cardinale [et al.] // *Stem. Cells.* – 2016. – Vol. 34, No. 5. – P. 1332–1342.
7. Inflammation and hyperglycemia mediate Deaf1 splicing in the pancreatic lymph nodes via distinct pathways during type 1 diabetes / L. Yip, R. Fuhlbrigge, C. Taylor [et al.] // *Diabetes.* – 2015. – Vol. 64, No. 2. – P. 604–617.
8. Shevach E., Thornton A. tTregs, pTregs, and iTregs: similarities and differences / E. Shevach, A. Thornton // *Immunol. Rev.* – 2014. – Vol. 259, No. 1. – P. 88–102.
9. Interleukin-10 deficiency impairs regulatory T cell-derived neuropilin-1 functions and promotes Th1 and Th17 immunity / S. Wang, X. Gao, G. Shen [et al.] // *Sci. Rep.* – 2016. – Vol. 6. – P. 242–249.
10. Hammerschmidt S. Stromal mesenteric lymph node cells are essential for the generation of gut-homing T cells in vivo / S. Hammerschmidt // *J. Exp. Med.* 2008. – Vol. 205. – P. 2483–2490.
11. Immune tolerance. Regulatory T cells generated early in life play a distinct role in maintaining self-tolerance / S. Yang, N. Fujikado, D. Kolodin [et al.] // *Science.* – 2015. – Vol. 348. – P. 589–594.

REFERENCES

1. Eades CE, Cameron DM, Evans JM. Prevalence of gestational diabetes mellitus in Europe: A meta-analysis. *Diabetes Res Clin Pract.* 2017;129: 173-81.
2. Ziegler SM, Feldmann CN, Hagen SH, Richert L, Barkhausen T, Goletzke J, Jazbutyte V, Martrus G, Salz-

12. Contribution of mesenteric lymph nodes and GALT to the intestinal Foxp3+Regulatory T-cell compartment / D. Geem, V. Ngo, A. Harusato // *Cell Mol. Gastroenterol. Hepatol.* – 2016. – Vol. 2 (3). – P. 274–280.
13. Колесник Ю. М. Дисфункция β -клеток панкреатических островков у мужского потомства самок крыс с экспериментальным гестационным диабетом / Ю. М. Колесник // *Запорож. мед. журн.* – 2007. – № 2. – С. 5–10.
14. Stagg A. J. Intestinal dendritic cells in health and gut inflammation / A. J. Stagg // *Front. Immunol.* – 2018. – Vol. 6. – P. 2883.
15. Sricharunrat T. Oral tolerance: Recent advances on mechanisms and potential applications / T. Sricharunrat, P. Pumirat, P. Leungwutiwong // *Asian Pac. J. Allergy Immunol.* – 2018. – Vol. 36 (4). – P. 207–216.
16. Spiegel S. The outs and the ins of sphingosine-1-phosphate in immunity / S. Spiegel, S. Milstien // *Nat. Rev. Immunol.* – 2011. – Vol. 11 (6). – P. 403–415.
17. Rivera J. The alliance of sphingosine-1-phosphate and its receptors in immunity / J. Rivera, R. L. Proia, A. Olivera // *Nat. Rev. Immunol.* – 2008. – Vol. 8 (10). – P. 753–763.
18. Griffith J. W. Chemokines and chemokine receptors: positioning cells for host defense and immunity / J. W. Griffith, C. L. Sokol, A. D. Luster // *Annu. Rev. Immunol.* – 2014. – Vol. 32. – P. 659–702.
19. Moschovakis G. L. Multifaceted activities of CCR7 regulate T-cell homeostasis in health and disease / G. L. Moschovakis, R. Förster // *Eur. J. Immunol.* – 2012. – Vol. 42 (8). – P. 1949–1955.
20. A myriad of functions and complex regulation of the CCR7/CCCL19/CCL21 chemokine axis in the adaptive immune system / I. Comerford, Y. Harata-Lee, M. D. Bunting [et al.] // *Cytokine Growth Factor Rev.* – 2013. – Vol. 24 (3). – P. 269–283.
21. Distinctive role of CCR7 in migration and functional activity of naive- and effector/memory-like Treg subsets / A. Menning, U. E. Hopken, K. Siegmund [et al.] // *European Journal of Immunology.* – 2007. – Vol. 37. – P. 1575–1583.
22. Localization of dendritic cells in the gut epithelium requires MAdCAM-1 / T. Clahsen, O. Pabst, K. Tenbrock [et al.] // *Clin. Immunol.* 2015. – Vol. 156, No. 1 – P. 74–84.
23. Xu B. Alpha4beta7 integrin/MAdCAM-1 adhesion pathway is crucial for B cell migration into pancreatic lymph nodes in nonobese diabetic mice / B. Xu, R. E. Cook, S. A. Michie // *J. Autoimmun.* – 2010. – Vol. 35 (2). – P. 124–129.

berger W, Renné T, Hecher K, Diemert A, Arck PC, Altfeld M. Innate immune responses to toll-like receptor stimulation are altered during the course of pregnancy. *J Reprod Immunol.* 2018;128: 30-7.

3. Prozorova TM, Kamyshna VA, Kamyshny AM. Effect

of experimental gestational diabetes and administration of glibenclamide on mRNA level of NLRP3-inflammasome and distribution of NLRP3⁺-cells in mesenteric lymph nodes in offspring. *Pathologia*. 2017;14(2): 149-55.

4. Degen AS., Koval GD., Sukhomlinova E., Morozova OV, Kamyshnyi AM. Analysis of cytoarchitectonics of TLR2⁺ and TLR4⁺ lymphocytes and transcriptional activity of the genes Gp2, Spi-B, Nf-kB1, c-REL, TNF α and TNFr IN GALT of rats in experimental diabetes mellitus and after pentoxifylline administration. *Medical Immunology (Russia)*. 2019;21(5): 821-34.

5. Metzger T, Anderson M. Control of central and peripheral tolerance by Aire. *Immunol Rev*. 2011;241(1): 89-103.

6. Carpino G, Puca R, Cardinale V, Renzi A, Scafetta G, Nevi L, Rossi M, Berloco PB, Ginanni Corradini S, Reid LM, Maroder M, Gaudio E, Alvaro D. Peribiliary glands as a niche of extrapancreatic precursors yielding insulin-producing cells in experimental and human diabetes. *Stem. Cells*. 2016;34(5): 1332-42.

7. Yip L, Fuhlbrigge R, Taylor C, Creusot RJ, Nishikawa-Matsumura T, Whiting CC, Schartner JM, Akter R, von Herrath M, Fathman CG. Inflammation and hyperglycemia mediate Deaf1 splicing in the pancreatic lymph nodes via distinct pathways during type 1 diabetes. *Diabetes*. 2015;64(2): 604-17.

8. Shevach E, Thornton A. tTregs, pTregs, and iTregs: similarities and differences. *Immunol Rev*. 2014;259(1): 88-102.

9. Wang S, Gao X, Shen G, Wang W, Li J, Zhao J, Wei YQ, Edwards CK. Interleukin-10 deficiency impairs regulatory T cell-derived neuropilin-1 functions and promotes Th1 and Th17 immunity. *Sci Rep*. 2016;6: 24249.

10. Hammerschmidt S. Stromal mesenteric lymph node cells are essential for the generation of gut-homing T cells in vivo. *J. Exp. Med*. 2008;205: 2483-90.

11. Yang S, Fujikado N, Kolodin D, Benoist C, Mathis D. Immune tolerance. Regulatory T cells generated early in life play a distinct role in maintaining self-tolerance. *Science*. 2015;348(6234): 589-94.

12. Geem D, Ngo V, Harusato A, Chassaing B, Gewirtz AT,

Newberry RD, Denning TL. Contribution of mesenteric lymph nodes and GALT to the intestinal Foxp3⁺ regulatory T-cell compartment. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*. 2016;2(3): 274-80.

13. Kolesnik YuM. [Pancreatic islet β -cell dysfunction in male offspring of female rats with experimental gestational diabetes]. *Zaporizh med zhurn*. 2007;2: 5-10. Russian.

14. Stagg AJ. Intestinal dendritic cells in health and gut inflammation. *Front Immunol*. 2018;6: 2883.

15. Sricharunrat T, Pumirat P, Leaugwutiwong P. Oral tolerance: Recent advances on mechanisms and potential applications. *Asian Pac J Allergy Immunol*. 2018;36(4): 207-16.

16. Spiegel S, Milstien S. The outs and the ins of sphingosine-1-phosphate in immunity. *Nat Rev Immunol*. 2011;11(6): 403-15.

17. Rivera J, Proia RL, Olivera A. The alliance of sphingosine-1-phosphate and its receptors in immunity. *Nat Rev Immunol*. 2008;8(10): 753-63.

18. Griffith JW, Sokol CL, Luster AD. Chemokines and chemokine receptors: positioning cells for host defense and immunity. *Annu Rev Immunol*. 2014;32: 659-702.

19. Moschovakis GL, Förster R. Multifaceted activities of CCR7 regulate T-cell homeostasis in health and disease. *Eur J Immunol*. 2012;42(8): 1949-55.

20. Comerford I, Harata-Lee Y, Bunting MD, Gregor C, Kara EE, McColl SR. A myriad of functions and complex regulation of the CCR7/CCL19/CCL21 chemokine axis in the adaptive immune system. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2013;24(3): 269-83.

21. Menning A, Hopken UE, Siegmund K, Lipp M, Hermann A, Huehn J Distinctive role of CCR7 in migration and functional activity of naive- and effector/memory-like Treg subsets. *European Journal of Immunology* 2007;37: 1575-83.

22. Clahsen T, Pabst O, Tenbrock K, Schippers A, Wagner N. Localization of dendritic cells in the gut epithelium requires MAdCAM-1. *Clin Immunol*. 2015;156(1): 74-84.

23. Xu B, Cook RE, Michie SA. Alpha4beta7 integrin/MAdCAM-1 adhesion pathway is crucial for B cell migration into pancreatic lymph nodes in nonobese diabetic mice. *J Autoimmun*. 2010;35(2): 124-9.

Отримано 04.02.20