

ОСОБЛИВОСТІ ЕКСПРЕСІЇ РЕЦЕПТОРІВ ВРОДЖЕНОГО ІМУНІТЕТУ ЛІМФОЦИТАМИ БРИЖОВИХ ЛІМФАТИЧНИХ ВУЗЛІВ У НАЩАДКІВ ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ГЕСТАЦІЙНИМ ДІАБЕТОМ

Т.М.Прозорова¹, В.А.Камшина¹, О.В.Морозова¹, Г.Д.Коваль², О.М.Камишиний¹

Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя¹

Вищий державний навчальний заклад України "Буковинський державний медичний університет", м. Чернівці²

Ключові слова:
паттерн-розпізнаючі рецептори, брижові лімфатичні вузли, вроджений імунітет, експериментальний гестаційний діабет.

Клінічна та експериментальна патологія Т.17, №2 (64). С.63-69.

DOI:10.24061/1727-4338.XVII.2.64.2018.107

E-mail:
alexkamyshnyi@gmail.com

Мета роботи - з'ясувати характер розподілу TLR2⁺-, TLR4⁺-, NOD2⁺- і RIGI⁺-лімфоцитів у брижових лімфатичних вузлах у нащадків щурів з експериментальним гестаційним діабетом (ЕГД), у нащадків щурів з ЕГД, матері яких отримували глібенкламід, та нащадків щурів з ЕГД, які отримували пероральний інсулін протягом 14 днів після народження.

Матеріал і методи. Для ідентифікації імунопозитивних лімфоцитів застосовували непрямий імунофлюоресцентний метод з використанням моноклональних або поліклональних антитіл до відповідних паттерн-розпізнаючих рецепторів.

Результати. ЕГД призводить до зростання кількості TLR2⁺-, TLR4⁺-, NOD2⁺- і RIGI⁺-лімфоцитів в БЛВ у нащадків, більш виразно на 1 місяць життя, змінює щільність PPP на імунних клітинах. В умовах формування оральної толерантності до інсуліну у 1-місячних нащадків у КП БЛВ зменшується чисельність TLR2⁺- і TLR4⁺-лімфоцитів, в МТ - TLR2⁺- і RIG-I⁺- клітин. Динаміка по зменшенню кількості клітин, імунопозитивних до PPP у КП БЛВ зберігається до 6-місячного віку. Введення глібенкламиду вагітним самкам знижують у КП БЛВ 1-місячних нащадків кількість TLR4⁺- та RIG-I⁺-лімфоцитів, у 6-місячних - лише TLR2⁺-клітин, взагалі не впливають на їх чисельність у МТ, переважно зменшують щільність PPP на імунопозитивних лімфоцитах БЛВ на ранніх термінах спостереження.

Висновки. Введення інсуліну нащадкам і глібенкламиду вагітним самцям зменшують рівень активації рецепторів вродженого імунітету в БЛВ у нащадків.

Ключевые слова:
паттерн-распознающие рецепторы, брыжеечные лимфатические узлы, врожденный иммунитет, экспериментальный гестационный диабет.

Клиническая и экспериментальная патология Т.17, №2 (64). С.63-69.

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ РЕЦЕПТОРОВ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА В ЛИМФОЦИТАХ БРЫЖЕЕЧНЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ У ПОТОМКОВ КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ГЕСТАЦИОННЫМ ДИАБЕТОМ

Т.М. Прозорова, В.А. Камышина, О.В. Морозова, Г.Д. Коваль, А.М. Камышиний

Цель работы - выяснить характер распределения TLR2⁺-, TLR4⁺-, NOD2⁺- и RIGI⁺-лимфоцитов в брыжеечных лимфатических узлах у потомков крыс с экспериментальным гестационным диабетом (ЭГД), у потомков крыс с ЭГД, матери которых получали глибенкламид, и потомков крыс с ЭГД, которые получали пероральный инсулин в течение 14 дней после рождения.

Материалы и методы. Для идентификации иммунопозитивных лимфоцитов применяли непрямой иммунофлюоресцентный метод с использованием моноклональных или поликлональных антител к соответствующим паттерн-распознающим рецепторам.

Результаты. ЭГД приводит к увеличению количества TLR2⁺-, TLR4⁺-, NOD2⁺- и RIGI⁺-лимфоцитов в БЛУ у потомства, более выражено - на 1 месяц жизни, изменяет плотность PPP на иммунных клетках. В условиях формирования оральной толерантности к инсулину у 1-месячных потомков в КП БЛУ уменьшается количество TLR2⁺- и TLR4⁺-лимфоцитов, в МТ - TLR2⁺- и RIG-I⁺- клеток. Динамика по уменьшению количества клеток, иммунопозитивных к PPP в КП БЛУ сохраняется до 6-месячного возраста. Введения глибенкламида беременным самкам снижают в КП БЛУ 1-месячных потомков количество TLR4⁺- и RIG-I⁺-лимфоцитов, у 6-месячных - только TLR2⁺-клеток, не влияют на их численность в МТ, преимущественно уменьшают плотность PPP на иммунопозитивных лимфоцитах БЛУ на ранних сроках наблюдения.

Выводы. Введение инсулина потомкам и глибенкламида беременным самкам уменьшают уровень активации рецепторов врожденного иммунитета в БЛУ у потомков.

PECULIARITIES OF RECEPTORS OF INNATE IMMUNITY IN LYMPHOCYTES OF MESENTERIC LYMPH NODES IN THE RAT PROGENY WITH EXPERIMENTAL GESTATIONAL DIABETES

T.M.Prozorova, V.A.Kamyshna, O.V.Morozova, G.D.Koval, O.M.Kamyshny

The purpose of the research. The aim of the work was to find out the distribution of TLR2+/-, TLR4+/-, NOD2+/- and RIGI+/-lymphocytes in mesenteric lymph nodes in the rat progeny of experimental gestational diabetes (EGD), in the rat progeny with EGD whose mothers received glibenclamide and the descendants of rats with EGD who received oral insulin for 14 days after birth.

Material and methods. For the identification of PRR+/-lymphocytes an indirect immunofluorescence method using monoclonal or polyclonal antibodies was used.

Results. Experimental gestational diabetes leads to an increase in the number of TLR2+, TLR4+, NOD2+ and RIGI+ lymphocytes in MLN in the progeny and changes the density of PRRs on immune cells. Changes are more pronouncedly at the age 1 month of life. Under conditions of the formation of oral tolerance to insulin the number of cortex TLR2+ and TLR4+ lymphocytes in 1-month progeny decreases. The amount of TLR2+ and RIGI+ cells in medullary cords of these rats decreases too. The dynamics in the number of immunoreactive cells to PRRs in the cortex of MLN remains up to 6 months of age. Administration of glibenclamide to pregnant females reduces the number of TLR4+ and RIGI+ lymphocytes in the MLN of 1-month progeny, but only TLR2+ cells in 6-month-old rats. It does not affect their number in medullary cords and decreases preferentially the PRRs density on immunopositive MLN lymphocytes in early terms of observation.

Conclusions. The introduction of insulin to the progeny and glibenclamide to pregnant females reduces the level of activation of the innate immunity receptors in the MLN in offspring.

Key words:
pattern-recognizing receptors, mesenteric lymph nodes, innate immunity, experimental gestational diabetes.

Clinical and experimental pathology. Vol.17, №2 (64). P.63-69.

Вступ

Брижові лімфатичні вузли (БЛВ) є головним місцем індукції периферичної імунологічної толерантності (ПІТ) до різноманітних антигенів, у тому числі й панкреатичних [1], а інтранатальна гіперглікемія, що розвивається при гестаційному діабеті (ГД), може впливати на морфогенез органів імунної системи і призводить до порушень формування ПІТ [2]. Використання слизової оболонки є привабливим шляхом для введення антигенів як толерогенів, а у нащадків шурів з експериментальним гестаційним діабетом (ЕГД) спостерігаються значні порушення формування ПІТ в БЛВ: репресія гена AIRE, зниження рівня мРНК Deaf1, транскрипційного фактору Foxp3, кількості Т-регуляторних клітин (Treg) [3]. Пероральне введення інсуліну в перші 2 тижні життя нівелює ці зміни, але механізми такого впливу потребують додаткового уточнення. Відомо, що активація адаптивної імунної відповіді, зокрема диференціювання субпопуляції Treg, неможлива без попередньої сигналізації з боку рецепторних компонентів вродженої, а саме цілої низки мембранних толл-подібних рецепторів (TLR), цитоплазматичних Nod- (NLR) та RIG-I-подібних рецепторів (RLR), які після активації індуюють через фактори транскрипції сімейства NF-κβ синтез і секрецію цитокінів і коstimуляторних молекул [4].

Крім того, важливою ланкою патогенезу ЕГД є активація одного з NOD-подібних рецепторів вродженого імунітету (PBI) - NLRP3-інфламасоми [5]. Серед інгібіторів інфламасоми перспективним є глібенкламід, який до того ж може ефективно коригувати гіперглікемію у вагітних [6]. Раніше ми з'ясували, що розвиток ЕГД супроводжується транскрипційною індукцією

гена Nlrp3 в БЛВ у нащадків, підвищує кількість NLRP3+лімфоцитів, а глібенкламід, як інгібітор активації NLRP3, продемонстрував свою ефективність лише на ранніх термінах спостереження [7]. Дані про ефекти глібенкламіді на інші PBI взагалі відсутні.

Мета роботи

З'ясувати характер розподілу TLR2+/-, TLR4+/-, NOD2+/- і RIG-I+/-лімфоцитів у БЛВ нащадків шурів з експериментальним гестаційним діабетом (ЕГД), а також після введень глібенкламіді вагітним щурам лінії Вістар та тварин, що у перші 14 днів життя отримували перорально інсулін.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження проведені на самицях шурів лінії Вістар, отриманих з розплідника Об'єднання ветеринарної медицини ПП "Біомодельсервіс" (Київ). Досліджувані тварини поділені на 8 експериментальних груп по 20 особин: нащадки інтактних шурів лінії Wistar (самці) віком 1 місяць (група 1) і 6 місяців (група 2), яким на 15-у добу датованої вагітності одноразово в/очередно вводили 0,5 мл 0,1 М цитратного буфера (pH=4,5); нащадки шурів лінії Wistar (самці) з експериментальним гестаційним діабетом (ЕГД) віком 1 місяць (група 3) і 6 місяців (група 4), яким на 15-у добу датованої вагітності одноразово в/очередно вводили стрептозотин в дозі 45 мг/кг; нащадки шурів з ЕГД віком 1 місяць (група 5), яким перорально за допомогою піпетки протягом перших 14 днів життя вводили людський інсулін короткої дії (ACTRAPID® HM, NOVO NORDISK, Данія) в дозі 30 МО (1050 мкг=1,05мг, 1 МО відповідає 35 мкг безводного людського інсуліну); нащадки шурів з ЕГД
Клінічна та експериментальна патологія. 2018. Т.17, №2 (64)

віком 6 місяців (група 6), яким перорально протягом перших 14 днів життя вводили інсулін в дозі 30 МО; нащадки шурів з ЕГД віком 1 місяць (група 7) і 6 місяців (група 8), яким з 15-ї доби датованої вагітності поряд з одноразовим в/очеревинним введенням стрептозоточину в дозі 45 мг/кг на протязі 7 діб перорально внутрішньошлунково (в/ш) вводили глібенкламід (Фармак, Україна) в дозі 5мг/кг.

Для ідентифікації розподілу TLR2⁺-, TLR4⁺-, NOD2⁺- і RIGI⁺-лімфоцитів у ПЛВ застосовували непрямий імунофлюоресцентний метод з використанням моноклональних або поліклональних антитіл до відповідних PPP (Santa Cruz Biotechnology, USA). Структуру популяції імунопозитивних клітин вивчали на підставі аналізу серійних гістологічних зрізів й даних їх морфометричних і денситометричних характеристик. Для проведення цього аналізу використовували ротаційний мікроскоп MICROM HR-360 (Microm, Німеччина), мікроскоп Primo Star (ZEISS, Німеччина), високочутливу камеру AxioCam 5c (ZEISS, Німеччина), пакет програм для отримання, архівування та підготовки зображень до публікації AxioVision 4.7.2 (ZEISS, Німеччина) та комп'ютерну програму Image J (NIH, США). Щільність рецепторів визначали, враховуючи інтенсивність флюоресценції ідентифікованих імунопозитивних клітин і неспецифічну флюоресценцію препарату (так званий "фон"). На підставі цих показників обраховували коректовану клітинну флюоресценцію (в умовних одиницях інтенсивності флюоресценції УОІФ). Це дало змогу обчислити абсолютну (кількість клітин на 1 мм² площі тканини) і відносну (%) щільність розподілу імунопозитивних лімфоцитів різних класів у досліджуваних зонах ПЛВ. Вивчали імунопозитивні клітини, розташовані в корковому плато (КП) та м'якотних тяжках (МТ) БЛВ.

Усі одержані експериментальні дані обробляли на персональному комп'ютері пакетом STATISTICA 6.0 (Stat-Soft, 2001). Для всіх показників розраховували значення середньої арифметичної вибірки (M), її дисперсії й помилки середньої (m). Для виявлення достовірності різниць результатів досліджень в експериментальних і контрольних групах тварин визначали коефіцієнт Стьюдента (t), після чого визначали можливість різниці вибірок (p) і довірчий інтервал середньої. Критичний рівень значущості під час перевірки статистичних гіпотез вважали рівним 0,05.

Результати та їх обговорення

У нащадків тварин з ЕГД спостерігалось збільшення в БЛВ кількості клітин імунопозитивних до патерн-розпізнавальних рецепторів. У віці одного місяця в корковому плато і мозкових тяжках сумарна щільність клітин, експресуючих усі досліджувані PPP була достовірно збільшена: в корковому плато TLR2 на 42% (p < 0,05), TLR4 в 2,9 рази (p < 0,05), NOD2 на 93% (p < 0,05), RIG-I в 2,3 рази (p < 0,05); а в мозкових тяжках TLR2 на 76% (p < 0,05), TLR4 на 72% (p < 0,05), NOD2 в 2,2 рази (p < 0,05), RIG-I на 39% (p < 0,05) (рис. 1 А-В). Звертає на себе увагу, що в корковому плато сильніше активуються мембранні сенсори бактеріальних ліпополісахаридів

TLR4 і цитоплазматичні сенсори вірусних РНК RIG-I, а в мозкових тяжках - мембранні TLR2 і цитоплазматичні NOD2 (Див. рис. 1 А-В), які здатні розпізнавати не лише значну частину мікробних лігандів, але і сигнали ушкодження і тривоги, так звані DAMPs (damage-associated molecular patterns). У ролі останніх можуть бути не лише класичні фактори ушкодження, такі як білки теплового шоку і міжклітинного матриксу, але і різні метаболіти, такі як АТФ, пурини, жирні кислоти, зміни рівня як спостерігаються в умовах ЕГД.

Аналіз щільності PPP на імунопозитивних лімфоцитах у 1-місячних нащадків шурів з ЕГД продемонстрував відсутність достовірних змін у TLR4⁺- і NOD2⁺-клітин, тоді як щільність TLR2 у КП цієї вікової групи знизилась на 11% (p < 0,05) в TLR2⁺-лімфобластах та на 8% (p < 0,05) в TLR2⁺- малих лімфоцитах. У МТ 1-місячних тварин щільність TLR2 в TLR2⁺-лімфобластах підвищена на 48% (p < 0,05), а в TLR2⁺-малих лімфоцитах знижена на 13% (p < 0,05).

Вивчення розподілу в БЛВ лімфоцитів, експресуючих РВІ у віці 6 місяців показало менш значні зміни. Зокрема, у КП БЛВ достовірно зростала загальна кількість TLR2⁺- (на 76%) і TLR4⁺-клітин (в 2,1 рази), а в мозкових тяжках - лише RIG-I⁺-лімфоцитів (на 71%) (рис. 1 С-Д). Щодо щільності РВІ на імунопозитивних клітинах, то вона зростала у TLR2⁺-лімфобластах МТ і знижувалась у TLR4⁺-малих і RIG-I⁺-середніх лімфоцитів МТ, а також у NOD2⁺-середніх і малих лімфоцитів КП і МТ.

Введення інсуліну впливало таким чином на розподіл у БЛВ клітин, експресуючих PPP: у віці 1 місяця в кірковому плато спостерігали достовірне зменшення сумарної щільності TLR2⁺- на 31% (p < 0,05) та TLR4⁺-лімфоцитів на 46% (p < 0,05), а в мозкових тяжках TLR2⁺- на 22% (p < 0,05) та RIG-I⁺- на 20% (p < 0,05) (Рис. 2 А-В). При цьому щільність PPP на імунопозитивних лімфоцитах у 1-місячних шурів, яким перорально протягом перших 14 днів життя вводили інсулін, також переважно знижувалась, більш виразно у КП. У 6 місяців динаміка щодо зменшення кількості клітин, імунопозитивних до PPP, у КП зберігалась.

Зокрема, загальна чисельність TLR2⁺-лімфоцитів зменшена на 37% (p < 0,05), TLR4⁺- на 41% та NOD2⁺- на 19% (p < 0,05). У мозкових тяжках знижувалась лише кількість NOD2⁺-клітин на 49% (p < 0,05) порівняно з тваринами з ЕГД (рис. 2 С-Д). Щільність TLR2, TLR4 і NOD2-рецепторів у цій віковій групі зменшувалась у молодих форм імунних клітин - лімфобластів, за винятком RIG-I.

Після введення глібенкламиду в одномісячних шурів у корковому плато спостерігали зменшення кількості TLR4⁺-лімфоцитів на 38% та RIG-I⁺- на 24% (p < 0,05) порівняно з тваринами з ЕГД (рис. 2 А). У 6 місячних шурів у КП БЛВ зафіксовано зменшення чисельності лише TLR2⁺-клітин на 35% (рис. 2 С). При цьому в мозкових тяжках достовірних змін взагалі не відбулося (рис. 2 В-Д). Аналіз щільності PPP на імунопозитивних лімфоцитах БЛВ після введення глібенкламиду продемонстрував зниження цього показника у 1-місячних нащадків шурів з ЕГД і різноспрямовані зміни у 6-місяч-

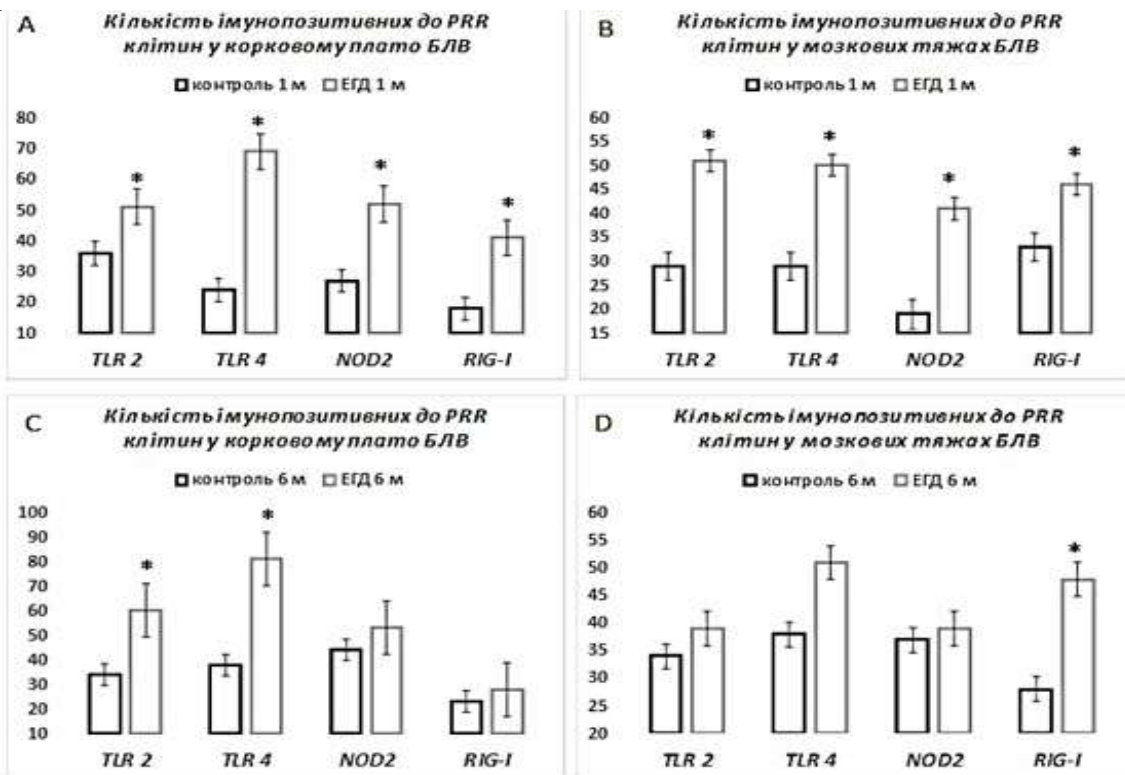


Рисунок 1. Кількість TLR2+, TLR4+, NOD2+ і RIG-I+ лімфоцитів у БЛВ в групі контролю та у нащадків щурів з експериментальним гестаційним діабетом (ЕГД) у віці 1 місяця (А, В) та 6 місяців (С, D). * - $p < 0.05$. PRR - pattern-recognition receptors

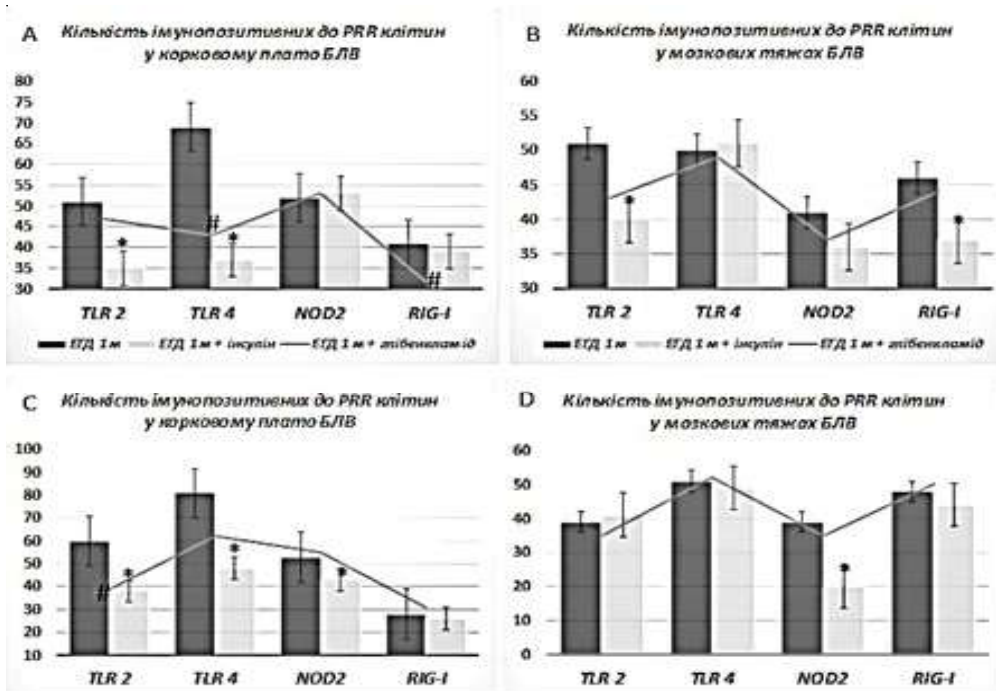


Рисунок 2. Кількість TLR2+, TLR4+, NOD2+ і RIG-I+ лімфоцитів у БЛВ нащадків щурів з експериментальним гестаційним діабетом (ЕГД) і після введення глібенкламіду вагітним щурам лінії Вістар та щурів, що отримували перорально інсулін у перші 14 днів життя. У віці 1 місяця (А, В) та 6 місяців (С, D). * та # -

них.

Отримані нами результати узгоджуються з іншими даними щодо здатності ГД чинити значний вплив на лише на імунні процеси у матері, але і у нащадків [8]. У досліджах [9] доведена роль TLR4 у пацієнтів з гестаційним цукровим діабетом (ГД). Рівні експресії TLR4 у моноцитах материнської периферичної крові та рівні

TNF- α у сироватці підвищені у жінок з ГД порівняно із здоровими вагітними жінками. Ці результати вказують на те, що TLR4-опосередковане вивільнення запальних цитокінів може бути одним із факторів, що призводить до підвищення рівня глюкози у пацієнтів з ГД. Крім того, можна стверджувати, що TLR4 є однією з ланок патогенезу ГД. Це підтверджується і результатами сто-Клінічна та експериментальна патологія. 2018. Т.17, №2 (64)

совно підвищення рівня мРНК TLR2 і TLR4 у моноцитах периферичної крові у жінок з ГД як одного з показників ранніх метаболічних порушень в умовах розвитку ГД [10].

Дані про зміни експресії РВІ у нащадків від матерів з ГД взагалі майже відсутні. Зокрема, Li Q. et al. (2016) продемонстрували, що у нащадків щурів з ЕГД підвищується рівень продукції прозапального цитокіну ІЛ-1 β клітинами селезінки [11] і ці ефекти є TLR4- та TLR2-залежними. Про роль TLR-рецепторів у розвитку імунних порушень у нащадків йдеться і в роботі Yanai S. et al. (2016) [12]. Дані їх дослідження вказують на те, що діабет індукує надмірну прозапальну активацію у новонароджених через TLR5- або TLR1/2-опосередковану вроджену імунну відповідь.

Щодо виявленого нами збільшення кількості NOD2+ і RIGI+-лімфоцитів в БЛВ у нащадків щурів з ЕГД, то це може засвідчити, що не лише мембранні толл-подібні рецептори, але і цитоплазматичні сенсори вродженої імунної системи можуть відігравати важливу роль у патогенезі імунних порушень у них. Така надмірна активація РВІ, на нашу думку, може бути викликана щонайменше двома факторами: по-перше, в умовах розвитку ГД у людини і ЕГД у експериментальних тварин спостерігаються значні порушення складу кишкового мікробіому як у матері, так і у нащадків [13], що суттєво змінює рівень лігандів для PPP [14]; по-друге, ЕГД супроводжується змінами метаболічного профілю у нащадків, що включають зміни метаболізму амінокислот, біосинтезу стероїдних гормонів, метаболізму гліцерофосфоліпідів та жирних кислот, які теж можуть розпізнаватися РВІ [15].

З іншого боку, БЛВ - це основне місце для індукції оральної толерантності (ОТ) серед інших лімфоїдних тканин [3]. Як відомо, ОТ не може бути індукована у мишей, позбавлених БЛВ, але це не впливає на тварин, у яких видалено пейєрові бляшки [16]. Наша спроба сформувати оральну толерантність до інсуліну засвідчує, що у 1-місячних нащадків зменшується чисельність клітин, експресуючих РВІ як у КП, так і у МТ БЛВ. При цьому динаміка щодо зменшення кількості клітин, імуніопозитивних до PPP, у КП БЛВ зберігається і до 6-місячного віку. Ці результати узгоджуються і з даними Vonifacio E. et al. (2015), які провели дослідження з метою оцінки імунної відповіді в умовах перорального введення інсуліну дітям з генетичним ризиком розвитку ЦДІ [17].

Висновки

1. Пренатальна гіперглікемія призводить до зростання кількості TLR2+, TLR4+, NOD2+ і RIGI+-лімфоцитів у БЛВ у нащадків, більш виразно на 1 місяць життя, змінює щільність PPP на імунних клітинах.

2. В умовах формування оральної толерантності до інсуліну у 1-місячних нащадків у КП БЛВ зменшується чисельність TLR2+ і TLR4+-лімфоцитів, у МТ - TLR2+ і RIGI+- клітин. Динаміка щодо зменшення кількості клітин, імуніопозитивних до PPP, у КП БЛВ зберігається до 6-місячного віку, супроводжується переважним зменшенням щільності мембранних і концентрації ци-

Клінічна та експериментальна патологія. 2018. Т.17, №2 (64)

топлазматичних РВІ в обох вікових групах, насамперед у лімфоцитах.

3. Введення глібенкламіду вагітним самкам знижують у КП БЛВ 1-місячних нащадків кількість TLR4+ та RIGI+-лімфоцитів, у 6-місячних - лише TLR2+-клітин, взагалі не впливають на їх чисельність у МТ, переважно зменшують щільність PPP на імуніопозитивних лімфоцитах БЛВ на ранніх термінах спостереження.

Перспективи подальших досліджень

Будуть продовжені дослідження у вибраному науковому напрямку.

Список літератури

1. Macpherson AJ, Smith K. Mesenteric lymph nodes at the center of immune anatomy. *J Exp Med*. 2006;203(3):497-500. doi: 10.1084/jem.20060227
2. Nielsen JH, Haase TN, Jaksch C, Nalla A, Søstrup B, Nalla AA, et al. Impact of fetal and neonatal environment on beta cell function and development of diabetes. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2014;93(11):1109-22. doi: 10.1111/aogs.12504
3. Prozorova T, Kamyshny A, Kamyshna V. Mechanisms of oral tolerance to insulin in offspring of rats with experimental gestational diabetes. *J Immunol Clin Microbiol*. 2017;2(2):27-33. doi: 10.5455/jicm.20170204
4. Vijay K. Toll-like receptors in immunity and inflammatory diseases: Past, present, and future. *Int Immunopharmacol*. 2018; 59:391-412. doi: 10.1016/j.intimp.2018.03.002
5. Lappas M. Activation of inflammasomes in adipose tissue of women with gestational diabetes. *Mol Cell Endocrinol*. 2014;382(1):74-83. doi: 10.1016/j.mce.2013.09.011
6. Netea MG, Joosten LA. Inflammasome inhibition: putting out the fire. *Cell Metab*. 2015;21(4):513-4. doi: 10.1016/j.cmet.2015.03.012
7. 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. doi: 10.14739/2310-1237.2017.2.109269
8. Friebe-Hoffmann U, Antony L, Krüssel JS, Pawlowski B, Hoffmann T. Peripheral Immunological Cells in Pregnant Women and their Change during Diabetes. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2017;125(10):677-83. doi: 10.1055/s-0043-104935
9. Xie BG, Jin S, Zhu WJ. Expression of toll-like receptor 4 in maternal monocytes of patients with gestational diabetes mellitus. *Exp Ther Med*. 2014;7(1):236-40. doi: 10.3892/etm.2013.1360
10. Kuzmicki M, Telejko B, Wawrusiewicz-Kurylonek N, Lipinska D, Pliszka J, Wilk J, et al. The expression of genes involved in NF- κ B activation in peripheral blood mononuclear cells of patients with gestational diabetes. *Eur J Endocrinol*. 2013;168(3):419-27. doi: 10.1530/EJE-12-0654
11. Li Q, Pereira TJ, Moyce BL, Mahood TH, Doucette CA, Rempel J, et al. In utero exposure to gestational diabetes mellitus conditions TLR4 and TLR2 activated IL-1 β responses in spleen cells from rat offspring. *Biochim Biophys Acta*. 2016;1862(11):2137-46. doi: 10.1016/j.bbdis.2016.08.004
12. Yanai S, Tokuhara D, Tachibana D, Saito M, Sakashita Y, Shintaku H, et al. Diabetic pregnancy activates the innate immune response through TLR5 or TLR1/2 on neonatal monocyte. *J Reprod Immunol*. 2016;117:17-23. doi: 10.1016/j.jri.2016.06.007
13. Hasan S, Aho V, Pereira P, Paulin L, Koivusalo SB, Auvinen P, et al. Gut microbiome in gestational diabetes: a cross-sectional study of mothers and offspring 5 years postpartum. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2018;97(1):38-46. doi: 10.1111/aogs.13252
14. Mokkalá K, Houttu N, Vahlberg T, Munukka E, Rönnemaa T, Laitinen K. Gut microbiota aberrations precede diagnosis of gestational diabetes mellitus. *Acta Diabetol*. 2017;54(12):1147-9. doi: 10.1007/s00592-017-1056-0
15. Chen Q, Francis E, Hu G, Chen L. Metabolomic profiling of women with gestational diabetes mellitus and their offspring: Review of metabolomics studies. *Diabetes Complications*. 2018;32(5):512-

3. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2018.01.007

16. Spahn TW, Weiner HL, Rennert PD, L'gering N, Fontana A, Domschke W, et al. Mesenteric lymph nodes are critical for the induction of high-dose oral tolerance in the absence of Peyer's patches. *Eur J Immunol.* 2002;32(4):1109-13. doi: 10.1002/1521-4141(200204)32:4<1109::AID-IMMU1109>3.0.CO;2-K

17. Bonifacio E, Ziegler AG, Klingensmith G, Schober E, Bingley PJ, Rottenkolber M, et al. Effects of high-dose oral insulin on immune responses in children at high risk for type 1 diabetes: the Pre-POINT randomized clinical trial. *JAMA.* 2015;313(15):1541-9. doi: 10.1001/jama.2015.2928

References

1. Macpherson AJ, Smith K. Mesenteric lymph nodes at the center of immune anatomy. *J Exp Med.* 2006;203(3):497-500. doi: 10.1084/jem.20060227

2. Nielsen JH, Haase TN, Jaksch C, Nalla A, Søstrup B, Nalla AA, et al. Impact of fetal and neonatal environment on beta cell function and development of diabetes. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2014;93(11):1109-22. doi: 10.1111/aogs.12504

3. Prozorova T, Kamyshny A, Kamyshna V. Mechanisms of oral tolerance to insulin in offspring of rats with experimental gestational diabetes. *J Immunol Clin Microbiol.* 2017;2(2):27-33. doi: 10.5455/jicm.20170204

4. Vijay K. Toll-like receptors in immunity and inflammatory diseases: Past, present, and future. *Int Immunopharmacol.* 2018;59:391-412. doi: 10.1016/j.intimp.2018.03.002

5. Lappas M. Activation of inflammasomes in adipose tissue of women with gestational diabetes. *Mol Cell Endocrinol.* 2014;382(1):74-83. doi: 10.1016/j.mce.2013.09.011

6. Netea MG, Joosten LA. Inflammasome inhibition: putting out the fire. *Cell Metab.* 2015;21(4):513-4. doi: 10.1016/j.cmet.2015.03.012

7. 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. doi: 10.14739/2310-1237.2017.2.109269

8. Friebe-Hoffmann U, Antony L, Krussel JS, Pawlowski B, Hoffmann T. Peripheral Immunological Cells in Pregnant Women

and their Change during Diabetes. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2017;125(10):677-83. doi: 10.1055/s-0043-104935

9. Xie BG, Jin S, Zhu WJ. Expression of toll-like receptor 4 in maternal monocytes of patients with gestational diabetes mellitus. *Exp Ther Med.* 2014;7(1):236-40. doi: 10.3892/etm.2013.1360

10. Kuzmicki M, Telejko B, Wawrusiewicz-Kurylonek N, Lipinska D, Pliszka J, Wilk J, et al. The expression of genes involved in NF- κ B activation in peripheral blood mononuclear cells of patients with gestational diabetes. *Eur J Endocrinol.* 2013;168(3):419-27. doi: 10.1530/EJE-12-0654

11. Li Q, Pereira TJ, Moyce BL, Mahood TH, Doucette CA, Rempel J, et al. In utero exposure to gestational diabetes mellitus conditions TLR4 and TLR2 activated IL-1 β responses in spleen cells from rat offspring. *Biochim Biophys Acta.* 2016;1862(11):2137-46. doi: 10.1016/j.bbdis.2016.08.004

12. Yanai S, Tokuhara D, Tachibana D, Saito M, Sakashita Y, Shintaku H, et al. Diabetic pregnancy activates the innate immune response through TLR5 or TLR1/2 on neonatal monocyte. *J Reprod Immunol.* 2016;117:17-23. doi: 10.1016/j.jri.2016.06.007

13. Hasan S, Aho V, Pereira P, Paulin L, Koivusalo SB, Auvinen P, et al. Gut microbiome in gestational diabetes: a cross-sectional study of mothers and offspring 5 years postpartum. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2018;97(1):38-46. doi: 10.1111/aogs.13252

14. Mokka K, Houttu N, Vahlberg T, Munukka E, Rönnemaa T, Laitinen K. Gut microbiota aberrations precede diagnosis of gestational diabetes mellitus. *Acta Diabetol.* 2017;54(12):1147-9. doi: 10.1007/s00592-017-1056-0

15. Chen Q, Francis E, Hu G, Chen L. Metabolomic profiling of women with gestational diabetes mellitus and their offspring: Review of metabolomics studies. *Diabetes Complications.* 2018;32(5):512-3. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2018.01.007

16. Spahn TW, Weiner HL, Rennert PD, L'gering N, Fontana A, Domschke W, et al. Mesenteric lymph nodes are critical for the induction of high-dose oral tolerance in the absence of Peyer's patches. *Eur J Immunol.* 2002;32(4):1109-13. doi: 10.1002/1521-4141(200204)32:4<1109::AID-IMMU1109>3.0.CO;2-K

17. Bonifacio E, Ziegler AG, Klingensmith G, Schober E, Bingley PJ, Rottenkolber M, et al. Effects of high-dose oral insulin on immune responses in children at high risk for type 1 diabetes: the Pre-POINT randomized clinical trial. *JAMA.* 2015;313(15):1541-9. doi: 10.1001/jama.2015.2928

Відомості про авторів:

Прозорова Т.М., асистент кафедри нормальної фізіології, Запорізький державний медичний університет.

Камішна В.А., к. мед. наук., доцент кафедри анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії, Запорізький державний медичний університет.

Морозова О.В., к. мед. наук., доцент кафедри нормальної фізіології, Запорізький державний медичний університет.

Коваль Г.Д., д. мед. наук., професор кафедри клінічної імунології, алергології та ендокринології Вищого державного навчального закладу України "Буковинський державний медичний університет", м. Чернівці

Камішний О. М., д. мед. наук., професор, зав. каф. мікробіології, вірусології та імунології, зав. молекулярно-генетичною лабораторією, Запорізький державний медичний університет.

Сведения об авторах:

Прозорова Т.М., ассистент кафедры нормальной физиологии, Запорожский государственный медицинский университет.

Камышная В.А., к. мед. наук., доцент кафедры анатомии человека, оперативной хирургии и топографической анатомии, Запорожский государственный медицинский университет.

Морозова О.В., к. мед. наук., доцент кафедры нормальной физиологии, Запорожский государственный медицинский университет.

Коваль Г.Д., д. мед. наук., профессор кафедры клинической иммунологии, алергологии и эндокринологии Высшего государственного учебного заведения Украины "Буковинский государственный медицинский университет", г. Черновцы

Камышный А. М., д. мед. наук., профессор, зав. каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии, зав. молекулярно-генетической лабораторией, Запорожский государственный медицинский университет.

Information about the authors:

Prozorova T.M., assistant professor of the department of normal physiology, Zaporizhzhya State Medical University.

Kamyshna V.A., PhD., Associate Professor of the department of human anatomy, operative surgery and topographic anatomy, Zaporizhzhya State Medical University, Zaporizhzhya.

Morozova O.V., PhD., Associate Professor of the Department of Normal Physiology, Zaporizhzhya State Medical University.

Koval G.D., PhD., doctor of Medical Sciences, professor of the Department of Clinical Immunology, Allergology and Endocrinology of the Higher State Educational Institution of Ukraine "Bukovina State Medical University", Chernivtsi.

Kamyshny O.M., PhD., doctor of Medical Sciences, Professor, Head of Department of Microbiology, Virology and Immunology, Head of Molecular Genetic Laboratory, Zaporizhzhya State Medical University.

Стаття надійшла до редакції 25.05.2018

Рецензент – проф. О.В. Цигикало

© Т.М.Прозорова, В.А.Камишина, О.В.Морозова, Г.Д.Коваль, О.М.Камишний, 2018
