

ВПЛИВ СОЦІАЛЬНОГО СТРЕСУ НА РОЗПОДІЛ ROR γ t-ЕКСПРЕСУЮЧИХ КЛІТИН КИШКОВО-АСОЦІЙОВАНОЇ ЛІМФОЇДНОЇ ТКАНИНИ ЩУРІВ

©І. О. Топол, О. М. Камишний

Запорізький державний медичний університет

РЕЗЮМЕ. Досліджено вплив хронічного соціального стресу на розподіл ROR γ t-експресуючих клітин у власній пластинці слизової оболонки ворсинок клубової кишки щурів лінії Wistar. Встановлено, що розвиток ХСС призводить до збільшення кількості ROR γ t⁺- та ROR γ t⁺CD8⁺-лімфоцитів в LFV і супроводжується зростанням концентрації транскрипційного фактора ROR γ t.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: стрес, ROR γ t-лімфоцити, щури.

Вступ. Хронічний соціальний стрес (ХСС) здатен викликати значні порушення не тільки у нейроендокринній системі, спричиняючи розвиток стану депресії і тривоги, але і викликає зміну у функціонуванні вродженого та адаптивного імунітету, які проявляються дисбалансом прозапальних та регуляторних субпопуляцій Т-хелперів та є одними з факторів ризику розвитку в подальшому аутоімунних захворювань (АІЗ) [1]. Це підтверджується багатьма спостереженнями, які свідчать про значне зростання відсотка запальних і АІЗ у людей й експериментальних тварин, які перебували в умовах ХСС, зокрема цукрового діабету 1 типу, стрес-індукованого запалення кишечника та ін. [1, 2]. З іншого боку, лімфоїдні структури, асоційовані зі слизовими оболонками шлунково-кишкового тракту мають найбільший об'єм серед всіх вторинних органів імунної системи та містять до 80 % всіх лімфоцитів, тому зміна їх функціонального стану критична для формування імунологічної толерантності та розвитку аутоімунної патології.

Суперсімейство ядерних рецепторів (ЯР) представлено у хребетних майже 50 білками, для багатьох ЯР ендогенні ліганди були ідентифіковані пізніше, ніж встановлена структура самого рецептора, а для деяких ліганди невідомі і до цього дня. Ця остання група білків і була названа orphan-рецепторами (англ. orphan – безрідний, сирота). Група ретиноевих orphan-рецепторів (Retinoic acid-related orphan receptors, RORs) представлена трьома основними підтипами: ROR α , ROR β і ROR γ (у людини – RORA, ROR β та RORC). Одна із ізоформ – ROR γ 2 – (ROR γ t) вперше була виявлена в тимусі та отримала назву TOR (thymus orphan receptor). Проте в подальшому експресія ROR γ t була виявлена і в периферійних органах імунної системи – лімфоцитах селезінки, лімфатичних вузлів, КАЛТ та ін.

Транскрипційний фактор ROR γ t містить 560 залишків, його молекулярна маса складає 63 кД, він є основним регулятором диференціювання прозапальних Th17-клітин та частки “вроджених” (Innate lymphoid cells, ILCs) ROR γ t-лімфоцитів.

Метою дослідження було вивчення розподілу ROR γ t-експресуючих клітин у власній пластинці слизової оболонки ворсинок клубової кишки щурів в умовах ХСС.

Матеріал і методи дослідження. Дослідження проведені на 45 самках щурів лінії Wistar. Експериментальну частину роботи виконували відповідно до національних «Загальних етичних принципів досліджень на тваринах» (Україна, 2001) і положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментальних й інших наукових цілей» (Страсбург, 1985). ХСС 1 моделювали шляхом тритижневої соціальної ізоляції та тривалого психоемоційного впливу (ПЕВ), що припускав перманентне проживання самок в «агресивному середовищі», а саме через перфоровану перегородку в клітці з агресивним самцем, який щодня вступав в конфронтації з підсадженим до нього іншим самцем [3]. ХСС 2 моделювали шляхом утримання тварин у перенаселених клітках (20 щурів на клітку) впродовж 3 тижнів із щоденною зміною угруповання, при якому піддослідну самку кожний день поміщали до нової збалансованої й перенаселеної колонії. Рівень поведінкової активності встановлювали у тесті «відкрите поле» згідно з вираженням дослідницької активності, у тесті Порсолта («вимушеного плавання», ВП) визначали рівень депресивності тварин. Щурів виводили з експерименту методом декапітації під наркозом.

Структуру популяції ROR γ t-клітин КАЛТ вивчали на підставі аналізу серійних гістологічних зрізів та даних їх морфометричних і денситометричних характеристик. Для проведення даного дослідження на ротаційному мікротомі MICROM HR-360 (Microm, Німеччина) робили 5-мікронні серійні зрізи клубової кишки, фіксованої за Буеном, які потім депарафінували в ксилолі, проводили регідратацію в низхідних концентраціях етанолу (100 %, 96 %, 70 %), відмивали у 0,1 М фосфатному буфері (рН = 7,4) і фарбували моноклональними антитілами (МКАТ) до ROR γ t. Для додаткового з'ясування фенотипу ROR γ t-лімфоцитів використовували ме-

тод подвійної імуофлуоресценції. При цьому гістологічні зрізи інкубували одночасно з первинними кролячими МКАТ до ROR γ t щурів виробництва Santa Cruz Biotechnology (США) та з мишачими МКАТ до CD8 щурів виробництва Beckman Coulter (США), вже кон'югованими з FITC впродовж 18 годин у вологій камері при T = 4 °C. Після відмивання надлишку первинних антитіл в 0,1 М фосфатному буфері зрізи інкубували 60 хвилин (T = 37 °C) з вторинними антитілами в розведенні 1:64. В якості вторинних антитіл використовували козячі антитіла до повної молекули IgG кролика, кон'югованих з Texas Red (Santa Cruz Biotechnology, США). Після інкубації зрізи промивали 0,1 М фосфатним буфером й укладали в суміш гліцерину і фосфатного буферу (1:9) для подальшої люмінесцентної мікроскопії. Оброблені гістологічні зрізи вивчали за допомогою комп'ютерної програми ImageJ (NIH, США). Зображення, що отримували на мікроскопі AXIOSKOP (ZEISS, Німеччина) в ультрафіолетовому спектрі збудження 390 нм (FITC) або 595 нм (TexasRed), за допомогою високочутливої камери AxioCam 5c (ZEISS, Німеччина) і пакету програм для отримання, архівування та підготовки зображень до публікації AxioVision 4.7.2 (ZEISS, Німеччина) негайно вводили в комп'ютер. При цьому в автоматичному режимі визначали області зі статистично значущою флуоресценцією, характерною для лімфоїдних клітин, експресуючих ROR γ t або CD8. Обчислювали морфометричні і денситометричні характеристики імунопозитивних клітин. Накладання ідентичних знімків у комп'ютерній програмі дозволяло ідентифікувати клітини, які одночасно експресують ROR γ t та CD8. При фарбуванні МКАТ досліджували так звані заповнені лімфоцитами ворсинки (Lymphocyte-filled villi, LFV), які є окремим компартментом КАЛТ у щурів й являють собою скупчення лімфоїдних клітин у власній пластинці слизової оболонки ворсинки [4]. За образним висловленням, LFV є "дифузним кишковим тимусом" (diffuse "guthymus") [4], вони є джерелом екстратимічних Т-клітин, переважно "вроджених" лімфоцитів та можуть являти собою місце інтенсивної активації наївних лімфоцитів і ранню стадію формування ізольованих лімфоїдних вузликів.

Всі одержані експериментальні дані обробляли на персональному комп'ютері з використанням прикладних і статистичних програм EXCEL з пакета MS Office 2010 (MicrosoftCorp., США), 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 при перевірці статистичних гіпотез приймали рівним 0,05.

Результати й обговорення. Розвиток ХСС супроводжувався зниженням дослідницької активності щурів у тесті «відкрите поле» та збільшенням часу іммобілізації більше ніж на 50 % відносно вихідного рівня у тесті Порсолта. Відомо, що у тварин в умовах тривалого ПЕВ або соціальної ізоляції формувався патологічний стан, який характеризувався вираженою тривожністю, зниженням дослідної та рухової активності, комунікативності й больової чутливості, порушеннями естрального циклу, статевого/соціального розпізнавання, розвитком депресивності [3]. Крім того, у таких тварин спостерігався весь спектр властивих стрес-реакційних змін, а саме підвищення маси надниркових залоз, рівня адреналіну та норадреналіну, вивільнення кортикостерону (КС) та ін. [3].

Аналіз серійних зрізів клубової кишки контрольних щурів лінії Wistar, попередньо інкубованих з МКАТ до ROR γ t⁺, показав, що сумарна щільність ROR γ t⁺ лімфоцитів у власній пластинці слизової оболонки LFV становила 82±7 на 1 мм² (табл. 1). Серед ROR γ t⁺-клітин переважали ROR γ t⁺-малі лімфоцити, відсоток яких складав майже половину від загальної кількості імунопозитивних лімфоцитів, тоді як найменше були представлені у структурі популяції ROR γ t⁺-лімфобласти (див. табл. 1). Розвиток ХСС1 супроводжувався збільшенням сумарної щільності ROR γ t⁺-лімфоцитів у власній пластинці слизової оболонки LFV в 2,1 раза (p<0,05), порівняно з контролем, за рахунок зростання щільності популяції (ЩП) ROR γ t⁺-середніх лімфоцитів (на 78 %, p<0,05) і ROR γ t⁺-малих лімфоцитів (в 2,9 раза, p<0,05), при цьому в структурі популяції достовірно знижувалася процентна частка ROR γ t⁺-лімфобластів.

Вимірювання інтенсивності флуоресценції ROR γ t⁺-лімфоцитів, що відображає концентрацію білка ROR γ t, показало наступне: ХСС1 приводив до достовірного зростання даного параметра у ROR γ t⁺-лімфобластів у 3 рази (p<0,05), ROR γ t⁺-середніх лімфоцитів у 2,3 раза (p<0,05) і ROR γ t⁺-малих лімфоцитів – на 31 % (p<0,05), порівняно з контролем. В умовах ХСС2 спостерігалася аналогічна, проте менш виражена тенденція до збільшення сумарної щільності ROR γ t⁺-лімфоцитів в LFV (на 94 %, p<0,05). При цьому вивчення розподілу окремих класів ROR γ t⁺-клітин показало збільшення ЩП тільки ROR γ t⁺-малих лімфоцитів (в 2,3 раза, p<0,05). Розвиток ХСС2 супроводжувався достовірним збільшенням концентрації ROR γ t-білка у ROR γ t⁺-лімфобластів (в 2,8 раза, p<0,05), ROR γ t⁺-середніх лімфоцитів (в 2,5 раза, p<0,05) і ROR γ t⁺-малих лімфоцитів (на 27 %, p<0,05), порівняно з контролем.

Таблиця 1. Кількість Rorγt⁺ та Rorγt⁺CD8⁺-лімфоцитів в LФV клубової кишки щурів лінії Wistar (M±m)

Серії	Rorγt ⁺ -лімфобласти	Rorγt ⁺ -середні лімфоцити	Rorγt ⁺ -малі лімфоцити	Сумарна щільність Rorγt ⁺ -лімфоцитів
Контроль	18±4 22,4±5,4%	23±4 27,8±5,4%	41±4 49,8±5,5%	82±7
Стрес 1	13±2 7,7±1,3% ¹	41±7 ¹ 23,8±4,2%	120±14 ¹ 68,5±8,3%	174±23 ¹
Стрес 2	22±4 13,7±2,8%	35±5 21,8±3,2%	102±11 ¹ 64,5±7,2%	159±19 ¹
Серії	Rorγt ⁺ CD8 ⁺ -лімфобласти	Rorγt ⁺ CD8 ⁺ -середні лімфоцити	Rorγt ⁺ CD8 ⁺ -малі лімфоцити	сумарна щільність Rorγt ⁺ CD8 ⁺ -лімфоцитів
Контроль	13±3 35,6±8,2%	9±2 26,1±5,5%	14±2 38,3±7,2%	36±7
Стрес 1	25±7 31,9±9,0%	22±6 ¹ 28,9±7,3%	30±7 ¹ 39,2±8,9%	77±19 ¹
Стрес 2	25±6 30,2±7,1%	21±5 ¹ 25,6±6,1%	37±9 ¹ 44,1±10,7%	83±19 ¹

Примітка: в чисельнику – щільність популяції Rorγt⁺ або Rorγt⁺CD8⁺ лімфоцитів (на 1 мм²), в знаменнику – процентна частка окремих класів лімфоцитів; достовірність відзнак параметрів p<0,05 відносно контролю (1).

Застосування подвійної імуофлуоресценції дозволило ідентифікувати клітини, ко-експресуючі RORγt і CD8-антигени, що є маркерами цитотоксичних лімфоцитів та рецепторами до молекул MHC1. При цьому виявилось, що 44 % RORγt⁺-клітин є ще й імунопозитивними по CD8, сумарна щільність таких RORγt⁺CD8⁺-лімфоцитів власній пластинці слизової оболонки LФV контрольних щурів становила 36±7 на 1 мм² (див. табл. 1).

Розвиток як ХСС1, такі ХСС2 супроводжувався достовірним збільшенням сумарної щільності RORγt⁺CD8⁺-лімфоцитів в LФV (в 2,1 раза та 2,3 раза відповідно, p<0,05) за рахунок зростання ЩП RORγt⁺CD8⁺-середніх лімфоцитів (в 2,3–2,4 раза, p<0,05) і RORγt⁺CD8⁺-малих лімфоцитів (в 2,1–2,6 раза, p<0,05), порівняно з контролем, при стабільності їх відсоткової частки в структурі популяції (див. табл. 1).

Виявлені нами зміни експресії RORγt в умовах стресу можуть бути одним з тригерів розвитку запальних захворювань кишечника (ЗЗК) й АІЗ. Так, відомо, що нокаут гена RORγt призводить до втрати здатності CD4⁺T-клітин диференціюватися в Th17-клітини; їх здатність до вироблення IL-17 різко послаблюється. У мишей із такою патологією неможливо індукувати автоімунні процеси [5]. Навпаки, ектопічна експресія RORγt викликає диференціювання Th17-клітин, причому половина RORγt⁺-клітин починає спонтанно секретувати IL-17 [5].

Встановлена патогенетична роль Th17-клітин та продукованих ними цитокінів у розвитку автоімунної та запальної патології, насамперед автоімунного коліту, хвороби Крона, розсіяного склерозу (модель на мишах – експериментальний автоімунний енцефаломієліт) [6]. Саме Th17 клітини є одними з основних індукторів ЗЗК, чому є цілком

достатня кількість доказів. По-перше, кілька незалежних досліджень показали зв'язок Th17 з кишковим запаленням у пацієнтів із ЗЗК [5,6]. По-друге, поліморфізм гена IL-23R (один з цитокінів Th17) був пов'язаний зі сприйнятливістю до ЗЗК людей [6]. По-третє, миші зі зниженою експресією RORγt демонструють підвищену стійкість до індукції експериментального запалення кишечника та характеризуються низькою кількістю інфільтруючих кишковою тканину Th17 клітин [7]. Нарешті, адаптивне перенесення *in vitro* або *in vivo* клітин Th17 лімфопенічним мишам призводить до розвитку у них коліту [7]. Разом ці дані підтверджують, що Th17-клітини відіграють центральну роль в патогенезі ЗЗК.

Отримані нами результати збігаються з даними Hong M. et al. (2013), які свідчать про те, що при розвитку стресу та стрес-індукованої депресії в лімфоїдних органах у мишей змінюється кількість Th17-лімфоцитів та порушується баланс між Th17/Treg-клітинами [8]. Так само Schmidt D. et al. (2010) показали, що ХСС призводить до активації імунної системи, стимулює диференціювання прозапальних Th17-та Th1-клітин у периферичних лімфатичних вузлах експериментальних тварин, знижує кількість Т-регуляторних лімфоцитів та викликає спонтанний розвиток стрес-індукованого коліту [9].

Характерно, що Th17-клітини можуть посилювати розвиток стресу та провокувати розвиток депресивноподібного стану. Так, Beurel E. et al. (2012) продемонстрували, що кількість Th17-лімфоцитів збільшена в головному мозку у мишей при стресі, тоді як застосування інгібіторів RORγt – SR1001, або anti-IL-17 антитіл підвищують їх стійкість до розвитку депресії [10]. Таким чином, виявлене нами збільшення кількості Th17-клітин при розвитку ХСС, в свою чергу, може посилювати та підтримувати

прогресування стресу та депресії, формуючи, таким чином, своєрідне “порочне коло” (стрес-Th17-стрес).

Хоча клітини Th17 зазвичай асоціюються з хронічними запальними та аутоімунними хворобами, ця популяція також має безліч корисних функцій, тому що вони забезпечують і захисну бар’єрну функцію слизової оболонки кишечника проти патогенів та підтримують репарацію епітелію. Крім того, нещодавні дослідження свідчать, що клітини Th17 можуть також набувати імуносупресивних функцій (регуляторний фенотип – rTh17), які захищають від запальних та аутоімунних хвороб за допомогою продукції супресорних цитокінів, характерних для Treg клітин [6].

Th17-клітини в кишечнику функціонують як “прикордонний патруль”, що забезпечує захист насамперед від позаклітинних бактерій; однак, ситуація ускладнена тим, що кишечник також містить величезну кількість коменсальних бактерій, які вигідні для господаря, а також широкий спектр харчових антигенів. Ця велика сукупність чужорідних антигенів може потенційно активізувати різні субпопуляції Т-хелперів, викликаючи АІЗ. Характерно, що саме тонкий кишечник, особливо клубова кишка, є основним резервуаром пулу Th17 клітин, тому що саме тут відбувається індукція їх диференціювання з наївних Т-лімфоцитів за участю сегментарних ниткоподібних бактерій (*segmented filamentous bacteria, SFB*) [6]. Рецептори для цитокінів Th17-клітин ІЛ-17А, ІЛ-17F, й ІЛ-22 широко представлені в епітеліоцитах кишечника, тому клітини Th17 забезпечують перехресний зв’язок між імунною системою та кишковою тканиною. ІЛ-17А й ІЛ-17F забезпечують інтенсивне залучення нейтрофілів до вогнища запалення, а також стимулюють продукцію в-дефензінів клітинами Панета, таким чином активізуючи багаторівневу антибактеріальну відповідь. ІЛ-22, крім стимуляції продукції антимікробних пептидів (АМП), викликає інтенсивну проліферацію епітеліоцитів, їх виживання і репарацію тканин кишечника [6, 7].

Таким чином, зв’язок ROR γ t з диференціюванням Th17-клітин є безсумнівним, але функції цього фактора реалізуються також за межами даної субпопуляції. Зокрема, значний інтерес викликають і так звані вроджені лімфоїдні клітини (ВЛК, Innate lymphoid cells, ILCs) – гетерогенна група клітин вродженої імунної системи [11], які диференціюються із загального лімфоїдного попередника. На відміну від Th17-клітин, вроджені ROR γ t-клітини, як правило, не експресують маркер Т-хелперів CD4 і локалізуються у власній пластинці слизової оболонки ворсинок або інтраепітеліально [11]. Про функціональний стан цих клітин та їх розподіл у КАЛТ на теперішній час майже нічого невідомо. Незважаючи на те, що ВЛК характеризуються низьким

рівнем реаранжування генів Т-клітинного рецептора, відсутністю МНС-рестрикції, інтенсивною експресією паттерн-розпізнавальних рецепторів і здатністю розпізнавати, в першу чергу, мікробні та непептидні антигени, ці клітини виражають більшість транскрипційних факторів й ефекторних молекул, які необхідні для диференціювання Т-хелперів, припускаючи, що ВЛК можуть бути еволюційним попередником клітин адаптивної імунної системи [12].

Незважаючи на відсутність універсальної класифікації, в даний час виділяють 3 групи ВЛК: група 1 популяції ВЛК складається з натуральних кілерів (NK) і, можливо, інших ВЛК, які експресують фактор транскрипції T-bet, синтезують IFN γ і пов’язані переважно з клітинним імунітетом, чим схожі на клітини Th1; група 2 ВЛК залежить від транскрипційного фактора GATA3, синтезує ІЛ-5 й ІЛ-13, стимулює антигельмінтні й алергічні імунні реакції та, таким чином, є аналогічною GATA3 – експресуючих Th2 клітин, і, нарешті, група 3 ВЛК складається із LTi-клітин (lymphoid tissue inducer), ILC17, NCR22 і великої кількості інших ІЛ-17А, ІЛ-17F й ІЛ-22-синтезуючих клітин, в тому числі й з ТКР гамма-дельта ($\gamma\delta$ T-лімфоцити), головною особливістю яких є експресія транскрипційного фактора ROR γ t, що обумовлює їх схожість з Th17 [13].

Таким чином, частина виявлених нами ROR γ t-експресуючих лімфоцитів не є Th17 клітинами. Враховуючи ко-експресію ROR γ t і CD8, із великою ймовірністю можна стверджувати, що частина з них – це $\gamma\delta$ T-лімфоцити – мінорна МНС-нерестрикована популяція лімфоцитів, яка на відміну від $\alpha\beta$ T-клітин не активується пептидними антигенами, що презентуються молекулами МНСI і МНСII класів, але здатні відповідати на небілкові антигени, зокрема фосфоантигени – низькомолекулярні непептидні сполуки, що містять фосфатну або пірофосфатну групи, які постійно експресуються в бактеріальних, рослинних і тваринних клітинах [14]. Причому дана популяція клітин здатна виявляти як цитотоксичні та прозапальні ефекти за рахунок продукції цитокінів TNF α , IFN γ і синтезу перфोरину, гранзимів, гранулізину, сергліцину, катепсину С, так і виконувати імунорегуляторну функцію, впливаючи на активність дендритних клітин, макрофагів, $\alpha\beta$ T-клітин, гранулоцитів, NK-клітин, продукцію аутоантитіл та регулюючи репарацію епітелію кишечника [15].

І, нарешті, ще однією субпопуляцією ROR γ t-експресуючих лімфоцитів з фенотипом ROR γ t⁺CD8⁺ можуть бути так звані цитотоксичні ІЛ-17-секретуючі лімфоцити (Tc17cell), які характеризуються інтенсивною продукцією IFN γ , більш низьким рівнем синтезу гранзимів і перфोरину, на відміну від “класичних” Т-кілерів (Tc1 і Tc2), і здатними, як і Th17-клітини, виступати в ролі тригерів запальних та АІЗ [16].

Висновки: 1. ROR γ t⁺-експресуючі клітини є важливим компонентом цитоархітекtonіки LFV, вони здатні надавати як прозапальні, так і захисні ефекти. Популяція ROR γ t⁺-клітин характеризується вираженою гетерогенністю і включає в себе не тільки Th17-клітини, але й групу "вроджених" ІЛ-17-синтезуючих клітин, втому числі гdT-лімфоцитів, а також субпопуляцію цитотоксичних лімфоцитів (Tc17cell).

2. Розвиток ХСС призводить до збільшення кількості ROR γ t⁺ – (на 94 %, у 2,1 раза) та Ror γ t⁺ CD8⁺-

лімфоцитів (в 2,1–2,3 раза) LFV в порівнянні з контролем і супроводжується зростанням концентрації ROR γ t. Виявлені зміни експресії ROR γ t в умовах стресу можуть бути одним з тригерів розвитку запальних захворювань кишечника.

Перспективи подальших досліджень.

Представляє значний інтерес подальше вивчення компонентів вродженої й адаптивної імунної системи КАЛТ в умовах ХСС і при модуляції складу кишкової мікрофлори.

ЛІТЕРАТУРА

1. Mays J. Stress and the anti-influenza immune response: repeated social defeat augments clonal expansion of CD8(+)T cells during primary influenza A viral infection / J. Mays, N. Powell, J. Sheridan // *J. Neuroimmunol.* – 2012. – Vol. 29. – P. 34–42.
2. Reber S. O. Stress and animal models of inflammatory bowel disease-an update on the role of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis / S. O. Reber // *Psychoneuroendocrinology.* – 2012. – Vol. 37. – P. 1–19.
3. Августиневич Д. Ф. Тревожность самок, вызванная длительным психоэмоциональным воздействием / Д. Ф. Августиневич // *Росс. физиол. журн. им. И. М. Сеченова.* – 2003. – Т. 89, № 7. – С. 858–867.
4. Hitotsumatsu O. Identification and characterization of novel gut-associated lymphoid tissues in rat small intestine / O. Hitotsumatsu, H. Hamada, H. Ishikawa // *J. Gastroenterol.* – 2005. – Vol. 40. – P. 956–963.
5. Maddur M. Th17 cells: biology, pathogenesis of autoimmune and inflammatory diseases, and the therapeutic strategies / M. Maddur, P. Miossec, J. Bayry // *Am J. Pathol.* – 2012. – Vol. 181, №1. – P. 8–18.
6. Huber S. Life, death, and miracles : Th17 cells in the intestine / S. Huber, N. Gagliani, R. Flavell // *Eur. J. Immunol.* – 2012. – Vol. 42. – P. 2238–2245.
7. Kanai T. ROR γ t-dependent IL-17A-producing cells in the pathogenesis of intestinal inflammation / T. Kanai, Y. Mikami, T. Sujino // *Mucosal Immunol.* – 2012. – Vol. 5, № 3. – P. 240–247.
8. Hong M. Imbalance between Th17 and T-reg cells may play an important role in the development of chronic unpredictable mild stress-induced depression in mice / M. Hong, J. Zheng, L. Wang // *Neuroimmunomodulation.* – 2013. – Vol. 20, №1. – P. 39–50.
9. Schmidt D. Chronic psychosocial stress promotes systemic immune activation and the development of inflammatory Th17 cell responses / D. Schmidt, S. Reber, A. Lechner // *Brain Behav Immun.* – 2010. – Vol. 24, № 7. – P. 1097–1104.
10. Beurel E. Inflammatory T Helper 17 Cells Promote Depression-like Behavior in Mice/ E. Beurel, L. E. Harrington, R. S. Jope // *Biol Psychiatry.* – 2012. – Vol. 19. – P. 3210–3223.
11. Wojno E. Innate Lymphoid Cells: Balancing Immunity, Inflammation, and Tissue Repair in the Intestine/ E. Wojno, D. Artis // *Cell Host & Microbe* – 2012. – Vol. 12. – P. 445–457.
12. Spits H. Innate lymphoid cells: emerging in sight in development, line a gerelation ships and function / H. Spits, T. Cupedo // *Annu. Rev. Immunol.* – 2012. – Vol. 30. – P. 647–675.
13. Spits H. Innate lymphoid cells – a proposal for uniform nomenclature / H. Spits // *Nature Rev. Immunol.* – 2013. – Vol. 13. – P. 145–149.
14. Sutton C. IL-17-producing $\gamma\delta$ T-cells and innate lymphoid cells/ C. Sutton, L. Mielke, K. Mills // *Eur. J. Immunol.* – 2012. – Vol. 42. – P. 2221–2231.
15. Born W. Diversity of $\gamma\delta$ T-cell antigens / W. Born, K. Aydinoglu, R. O'Brien // *Cellular & Molecular Immunology.* – 2013. – Vol. 10. – P. 13–20.
16. Yaochite J. N. Dynamic changes of the Th17/Tc17 and regulatory T cell population interfere in the experimental autoimmune diabetes pathogenesis / J. N. Yaochite, C. Caliar-Oliveira, M. R. Davanzo // *Immunobiology.* – 2013. – Vol. 218, № 3. – P. 338–352.

INFLUENCE OF SOCIAL STRESS ON THE DISTRIBUTION OF ROR γ T-EXPRESSED CELLS OF THE INTESTINE-ASSOCIATED LYMPHOID TISSUE OF THE RATS

©I. O. Topol, O. M. Kamyshny

Zaporizhzhia State Medical University

SUMMARY. It is investigated the influence of chronic social stress on the distribution of ROR γ t-expressed cells in the own lamina of mucous membrane of the fibres of the ileum of the rats of Wistar line. It is established that the development of CHSS results to the enlargement of quantity of ROR γ t⁺ - and Ror γ t⁺CD8⁺-lymphocytes in LFV and it is accompanied by increasing of transcribed factor ROR γ t concentration.

KEY WORDS: stress, ROR γ t-lymphocytes, rats.